



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

2015-YL-0003

**OVARIEKTOMİZE RATLARDA BORİK ASİT
UYGULAMASININ KEMİK METABOLİZMASI
ÜZERİNE OLASI ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Gamze TOSUN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
2015-YL-0003

OVARIEKTOMİZE RATLARDA BORİK ASİT
UYGULAMASININ KEMİK METABOLİZMASI
ÜZERİNE OLASI ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Gamze TOSUN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Gamze TOSUN tarafından hazırlanan “Ovariectomize Ratlarda Borik Asid Uygulamasının Kemik Metabolizması Üzerine Olası Etkisi ” başlıklı tez, 22/05/2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

1- Prof.Dr.Ayşegül BİLDİK

ADÜ

2-Prof.Dr.Hayrettin ÇETİN

ADÜ

3- Prof.Dr.Funda KIRAL

ADÜ



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun..... Sayılı kararıylatarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Osteoporoz, özellikle postmenopozal dönemdeki kadınlarda ya da yaşlılıkla paralel olarak kemik metabolizmasında bozukluk sonucunda kemiğin birim hacmindeki mineral yoğunluğunun azalmasıyla karakterize olan, kırık riskini artıran bir rahatsızlıktır. Osteoporozun en önemli sebebi vücuttaki östrojen seviyesinin azalmasıdır. Ovariectomi deneysel osteoporoz modeli olarak kabul edilir. Hormon replasman tedavisi, vitamin D ve kalsiyum alınması, bifosfanlar osteoporoz tedavisinde en sık kullanılan tedavi yöntemleridir. Yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen osteoporoz için yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Bu yeni tedavi yöntemlerinden biri borik asit uygulamasıdır. Borik asit; bir Lewis asididir, bu özelliğinden dolayı reaksiyon mekanizmalarında ortamda hidroksilasyon salınımını artırıcı etki gösterir. Steroid hormonlar, D vitamini, testosteron ve 17-beta-östradiol gibi birçok biyosentez mekanizması bir veya daha fazla hidroksilasyon basamağı içermektedir. Borik asit, bu biyomekanizmalar üzerinden hidroksilasyon basamaklarında düzenleyici rol oynayarak hormonal ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etki göstermektedir.

Bu çalışmada da ovariectomize ratlarda farklı dozlarda uygulanan borik asidin, kemik metabolizmasını etkileyen bazı hormonal ve biyokimyasal parametrelere olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerinden alınan VTF-14040 nolu araştırma fonu ile desteklenmiştir.

Gamze TOSUN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kemik Doku	1
1.2. Kemik Hücreleri	2
1.2.1. Osteoprogenitör Hücreler	2
1.2.2. Osteoblastlar	2
1.2.3. Osteositler.....	3
1.2.4. Osteoklastlar	3
1.3. Kemik Oluşumu(Osteogenez)	4
1.4. Kemığın Yeniden Şekillenmesi	4
1.5. Kemığın Onarımı	5
1.6. Kemik Yapım Belirteçleri	5
1.6.1. Alkalen Fosfat(ALP)	6
1.6.2. Osteokalsin (OC)	7
1.6.3. Prokollajen Tip I Telopeptitler; Prokollajen I-C Terminal (PICP) ve Prokollajen I-N Terminal (PINP).....	8
1.7. Kemik Yıkım Belirteçleri	8
1.7.1. Hidroksirolin	9
1.7.2. Piridinium Türevleri (Piridinolin (Pyd) ve Deoksipiridinolin(Dpd))	10
1.7.3. Tip-I Kollajen Çapraz Bağlı Telopeptitleri	11

1.7.3.1. C-Terminal (CTX).....	11
1.7.3.2. N-Terminal (Ntx).....	11
1.7.4. Tartarat Rezistan Asit Fosfataz (TRAcP).....	11
1.8. Kemik Metabolizma Bozukluklarının Klinik Sonuçları Ve Belirteçlerin Tanıda Yerleri	12
1.8.1. Osteomalazi	12
1.8.2. Osteitis Fibroza Sistika.....	12
1.8.3. Paget’s Hastalığı.....	12
1.8.4. Hipofosfataz	13
1.8.5. Osteogenezis İmperfekta(Cam Kemik Hastalığı).....	13
1.8.6. Osteopetrozis	13
1.8.7. Osteoporoz.....	13
1.8.7.1. Primer Osteoporoz.....	14
1.8.7.2. Sekonder Osteoporoz.....	15
1.8.7.3. Osteoporoz Risk Faktörleri ve Nedenleri	15
1.8.7.4. Osteoporoz Tanı Yöntemleri	16
1.8.7.4.1. DEXA	16
1.8.7.4.2. Kantitatif CT.....	16
1.8.7.4.3. Ultrason Dansitometre.....	16
1.8.7.4.4. X Ray Absorbsiyometrisi	16
1.8.7.4.5. Biyokimyasal tanı yöntemleri.....	17
1.9. Mineral ve Kemik Metabolizmasını Düzenleyen Hormonlar ve Biyokimyasal Parametrelerin Önemi	17
1.9.1. Paratiroid Hormon (PTH).....	17
1.9.2.Kalsitonin	19
1.9.3. Vitamin D	19

1.10. Osteoporozda Tedavi Yaklaşımları	21
1.10.1. Antirezorptif İlaçlar	22
1.10.1.1. Bifosfatlar	22
1.10.1.2. Selektif östrojen reseptör modülatörleri(SERM).....	23
1.10.1.3. Kalsitonin	23
1.10.1.4. Denosumab	23
1.10.1.5 Hormon replasman tedavisi (HRT)	23
1.10.2 Anabolik Ajanlar	24
1.10.2.1. Parathormon ve analogları.....	24
1.10.2.2. Stronsiyum ranelet	24
1.10.3. Kombinasyonlu ya da Ardışık Tedaviler.....	24
1.11. Osteoporoz Tedavisi İçin Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı Bor	25
1.11.1. Borun Kimyasal Özelliği	26
1.11.2. Borun Hormon Metabolizmasına Etkileri	26
1.11.3. Bor ve Sitokinler.....	27
1.11.4. Borun Kemik Metabolizmasına Etkisi	28
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
2. 1. Materyal Toplanması ve Örneklerin Hazırlanması	31
2.2. Kullanılan Cihazlar.....	33
2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	33
2. 4. Yöntemler	33
2.4.1. Kan Serumunda Kalsiyum Miktarının Glyoxal-bis Metoduyla Tayini	33
2.4.2. İnorganik Serum Fosfatın Kalay Klorid Kullanarak Belirlenmesi.....	34
2.4.3. 25-Hidroksi Vitamin D Tayini	36
2.4.4. 1,25-Di Hidroksi Vitamin D Tayini	36

2.4.5. Alkalen Fosfataz'ın (ALP) Kantitatif Tayini.....	37
2.5 İstatistiksel Analizler	37
3. BULGULAR	38
3.1. 1,25 Dihidroksi Vitamin D Bulguları	38
3.2. 25 Hidroksi Vitamin D Bulguları	39
3.3. Magnezyum Bulguları	41
3.4.Fosfat Bulguları	41
3.5. ALP Düzeyleri.....	42
3.6. Kalsiyum Bulguları	43
3.7. PTH Bulguları	43
4. TARTIŞMA.....	45
5. SONUÇLAR.....	52
ÖZET	53
SUMMARY	54
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	65
TEŞEKKÜR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP	:Alkale fosfataz
BS	:Kemik Sialoprotein
Ca	:Kalsiyum
CTX	: C-Terminal
Cu	:Bakır
DPD	: Deoksipiridinolin
GGH	: α - 1,2-glukozil-galaktozil-0-hidroksilizin
GH	: 1-galaktozil-O-hidroksilizin
IGF	:İnsülün benzeri büyüme faktörü
INTP, NTX	:Tip I kollajen amino terminal çapraz bağ telopeptidi
KMY	:Kemik mineral yoğunluğu
LDH	:Laktat dehidrojenaz
Mg	:Magnezyum
Ntx	:N-Terminal
OCN	: Osteokalsin
OH-Pro	: Hidroksiprolin
OP	:Osteoporoz
P	:Fosfat
PICP	:Prokollajen I-C Terminal
PINP	:Prokollajen I-N Terminal
PTH	:Paratiroid hormon
PYD, PYR	: Piridinolin
TARcP	:Tartarat-rezistant asid fosfataz
TSH	:Tiroid stimule edici hormon

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Kemik Formasyon Belirteçleri	6
Çizelge 1.2. Kemik Rezorbsiyon Belirteçleri	9
Çizelge1.3. Osteoporoz Tipleri	15
Çizelge 1.4. Bifosfatan Türüne Göre Etki Yolağı.....	22
Çizelge 1.5. Bor Elementinin Fiziksel Ve Kimyasal Özellikleri	25
Çizelge 1.6. Borun Etki Mekanizması Hipotezleri	26
Çizelge 2.1. Yem Analiz Sertifikası.....	31
Çizelge 2.2. Gruplara Yapılan İşlemler.....	32
Çizelge 3.1. Gruplar Arası Bulguların İstatistikî Değerlendirilmesi.....	38

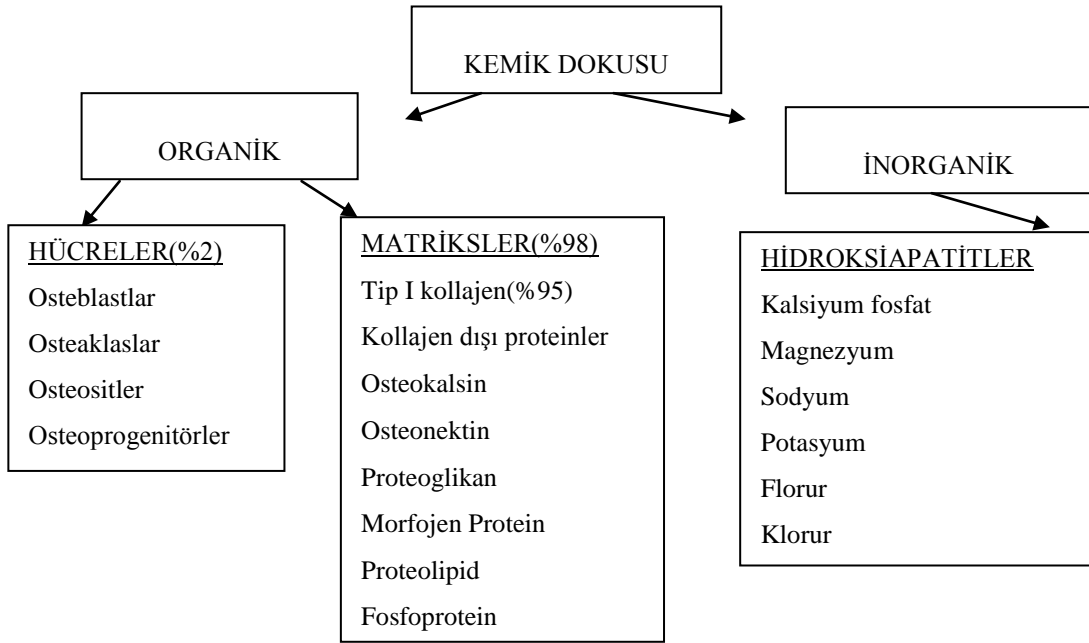
ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kemik doku	1
Şekil 1.2. Piridinolin ve deoksipiridinolin kollajen içindeki yeri	10
Şekil 1.3. PTH döngüsü	18
Şekil 1.4. Vitamin D döngüsü	20
Şekil 3.2. 1,25 Dihidroksi Vitamin D sonuçları grafiği	39
Şekil 3.3. 25 Hidroksi Vitamin D sonuçları grafiği	40
Şekil 3.4. Magnezyum sonuçları grafiği	41
Şekil 3.5. Fosfat sonuçları grafiği	42
Şekil 3.6. ALP sonuçları grafiği.....	42
Şekil 3.7. Kalsiyum sonuçları grafiği.....	43
Şekil 3. 8. PTH sonuçları grafiği.....	44

1. GİRİŞ

1.1. Kemik Doku

İçinde kollajen teller ve kalsiyum tuzları bulunan, kasların bağlanmasıyla hareketi sağlayan, uzun, kısa ya da değişik boylarda olabilen, sertleşmiş bir özelleşmiş bağ dokusu tipine kemik denir. Vücuttaki en sert dokudur, %30' u organik %70'i ise inorganik kısımdan oluşmuştur (Ata ve Cemal 2000).



Şekil 1.1. Kemik doku (Ata ve Cemal 2000)

Kemik dokunun başlıca görevleri; kandaki bazı inorganik iyonların (kalsiyum, fosfat, magnezyum, sodyum gibi) hemoostazisini sağlamak, kemik iliğini barındırarak kan elemanlarının oluşmasına uygun ortam sağlamak, yumuşak dokuların korunması, eklemlerin desteklenmesi, kas kasılmasının aktarılması, kemik metabolizmasıyla ilgili bazı iyonik dengelerin korunmasıdır (Junquria ve ark 1989, Baron 1999, Ata ve Cemal 2000).

1.2. Kemik Hücreleri

Kemik hücreleri; osteoprogenitör hücreler, osteoblast, osteoklastlar, osteositler, makrofajlar ve endosteal hücreler olmak üzere sınıflandırılırlar. Osteoblast ve osteoklastlar kemik hücreleri arasında en önemli olanlardır ve mineralize olmuş kemik matriksteki lakünaların içinde bulunurlar (Sağlam ve ark 2001).

1.2.1. Osteoprogenitör Hücreler

Periosteum tabakasının en iç kısmını, Havers ve Volkman kanallarını ve kemik iliği boşluğunu kaplayan endosteal hücrelerden oluşan hücreler osteoprogenitör hücrelerdir. Diğer bir adı da osteojenik hücrelerdir. Mezenşimik hücrelerdir, mitoz bölünme geçirerek olgun kemik hücrelerine dönüşürler. Kemik hücresinin kırılması, tamiri gerektiği durumlarda aktifleşip osteoblast hücrelerine dönüşmektedirler (Martin ve Rodan 2001).

1.2.2. Osteoblastlar

Kemiğin organik komponent maddelerini (glikozaminoglikanlar ve kollajen tip I) sentezleyen kemik hücreleridir. Ayrıca inorganik kısmın oluşumunda aracılık ederler. Kireçlenmemiş osteoid adı verilen maddeyi salgılayan ve daha sonra etkinliklerini azaltarak osteositlere dönüştüren yassı, eozinofilik, kemik yapıcı hücreler osteoblastlar olarak adlandırılmaktadır. Kemik trabeküllerinin ya da lamellerin (kompakt kemik) yüzeylerinde tek sıra halinde dizilmiştir. Sitoplazmaları granüllü retikulumdan ve golgi aygıtları bakımından zengindir. Bu durum osteoblastların yüksek bir metabolik aktivite gösterdiğinin işaretidir. Osteoblastlar salgıladıkları osteoid doku(kireçlenmemiş olan madde) içinde hapis kalırlar. Doku kireçlendikçe osteoblast aktivitesi azalır, şekilleri değişir, osteositleri oluştururlar (Sağlam ve ark 2001).

Osteoblastların sitoplazmaları alkalin fosfataz bakımından zengindir. Zengin ALP sayesinde kandan kemiğe geçen kalsiyum ve fosforun çökmesini sağlarlar, kireçleşen temel doku içine hapis olurlar, aktiviteleri azalır ve zamanla osteositlere dönüşürler(Kimmel ve ark1999).

1.2.3. Osteositler

Primer ve sekonder kemik dokularının içinde bulunan hücelere osteosit denir. Osteositleri; kendilerini, kendi sentezledikleri kemik matriksi içine hapsedilmiş olan osteoblastlar olarak tanımlayabiliriz (Baron 1999). Kireçlenmiş kemik matriksi içinde kalan metabolik aktiviteleri düşük olan osteoblastlardır. Olgunlaşmış hücrelerdir. Osteositler, kemik lamellar yapısı arasında bulunan lakün adı verilen boşluklarda yer alır. Lakünlerin uzanma doğrultusuna uyarak şekillenirler, yassı ya da oval olurlar. Lakünlerden her yönde olmak üzere kanalcıklar çıkar. Kanalcıklar komşu kanallarla birleşerek kemik doku içinde kanalcık sistemi oluşturur. Osteositler sitoplazma uzantıları ile donatılmıştır. Bunlar uç uca değerek birbirlerine bağlanırlar. Osteoblast aktivitesi azalmasına paralel olarak salgı aktivitesi de azalacağından granüllü retikulum ve golgi aygıt miktarı da azalır, çekirdekte heterokromatikleşir. Kemik dokusunun canlı kalabilmesi osteositlerin varlığına bağlıdır. Apoptozize uğrayan osteositler, osteoklastlar sayesinde rezorbe edilir. Kemik matriksi kireçlenmiş olduğundan madde transportu osteositler üzerinden meydana gelir. Besin maddeleri ve hormonlar içeren doku sıvısı, osteositler üzerindeki kanallaryardımlı gap junction ile hücreden hücreye geçer. Hücreler yaşlandıkça uzantıların boyları kısalmış, hücreler arası iletişim minimal seviyede sağlanır (Sağlam ve ark 2001).

Osteoblastların en önemli görevlerinden biri; kemiklerden açığa çıkan kalsiyum ve iyonları kanalküller aracılığı ile osteositten osteosite geçirek kan damarına ulaştırır (Kutlu 1997).

1.2.4. Osteoklastlar

Kemiklerin yıkımından sorumlu, bol çekirdekli, fazla miktarda lizozom (lizozom enzimi; asit fosfataz, kollagenaz, proteazlar) az miktarda granüllü retikulum içeren hücrelerdir. Hücrelerin yüzeylerinde sitoplazmik uzantılar bulunmaktadır. Hücreler içindeki lizozomal enzimleri genişlemiş yüzeye vererek kemikleri eritirler ve zamanla bölgede çukurlar oluşur, bu çukurlara Howship lakünleri denir. Ereyen maddeler osteoklastlar tarafından fagositize edilip zararsız hale getirilir. Açığa çıkan iyonlarda kana verilir. PTH osteoklastların sayısını ve rezorbsiyonunu artırır ve kana

daha fazla kalsiyum geçer. Tiroid bezinden salgılanan kalsitonin ise matris yapımını kamçılar dengeye gelmesini sağlar (Martin ve Rodan2001).

Osteklastların oluşumunu; kırmızı kemik iliğindeki hücrelerin salgıladığı bazı maddelerle uyarılır. Uyarılan hücreler bir araya gelerek osteoklastları oluştururlar. Kemik yapımı sırasında osteoklastlar trabeküllerin yüzeylerinde ya da kompakt kısımların iç yüzeylerinde yerleşerek, buraları eritirler. Böylece kemikler yerleşip uzayabilme özelliği gösterirler (Sağlam ve ark 2001).

1.3. Kemik Oluşumu(Osteogenez)

Kemikler, intramembranöz kemikleşme ve endokondrol kemikleşme olmak üzere iki şekilde gelişirler. Anatomik olarak yassı olan menzematik dokunun kemik dokusuna farklılaşması ile olan kemikleşmeye intramembranöz kemikleşme adı verilir. Kısa ve uzun kemiklerde hiyalin kıkırdaktan oluşan kemikleşmeye ise endokondrol kemikleşme denir. Bu iki tür kemikleşmede de kemik oluşana kadar hem kemiğin yapılan kısmı hem de yıkıma uğrayan kısmı eş zamanlı olarak çalışır. Bu yüzden kemik yapımı sırasında primer kemik doku alanları ile sekonder kemik doku alanları yan yana bulunur. Büyüme çağının özelliklerine göre yapım ile yıkım fazlalığı değişiklik gösterir (Sağlam ve ark 2001, Reginato ve ark 2001).

1.4. Kemiğin Yeniden Şekillenmesi

Kemik büyümesi, kemiğin dış yüzeyinde gerçekleşen yeni kemik oluşumu ile iç yüzeyinde gerçekleşen kemik yıkımının belirli bir denge içinde gerçekleşmesi yoluyla oluşur. Bu sayede kemiğin şekli büyük ölçüde değişmez fakat kan hücreleri için yeterli kemik iliği boşluğu oluşur. Büyüme sırasında havers sistemi oluşur, yıkılır, tekrar oluşur. Yeni havers sistemi oluşması süreci ise genellikle osteoklastlar tarafından başlatılır ve aynı zamanda kan damarları bölgeyi işgal eder. Osteoklastlar, gelişen kan damarlarının ucuna yerleşir. Böylece yeni tüneller kemiğin uzunlama eksenini boyunca kemiğin yıkıma uğramasıyla oluşur. Açılan tünelin yüzeyini osteoblast tabakası kaplar ve konsantrik dairesel lameller Havers sistemindeki gibi oluşur. Kan damarları bölgede bulunan osteoklast ve osteoblastların faaliyetleri ile uzar ve dallanır. Böylece yeni tüneller yapılır ve içlerinin dolması için yeni havers

sistemler oluşturur. Kemiğin yeniden yapılanmasına uyum sağlamak için kemik dokuya uygulanan stres faktörlerinde yeniden modellenme yoluna gider (Martin ve Rodan 2001).

Kemiğin yeniden şekillenmesinde etkili olan başlıca hormonlar; parathormon, kalsitonin, growth faktör, glikokortikoidler, cinsiyet hormonları, triod hormonları, kalsitriol iken, otokrin faktörler ise; İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF), platelet(PDGF), sitokinlerdir (IL-1-6-11-17, TNF- α , prostanooidler (PGE2), TNF reseptörleri)(Aydil 2005).

1.5. Kemiğin Onarımı

En sık görülen kemik rahatsızlıkları kırıklardır. Kırılma sonucunda kemiğin parçalara ayrılması, periosteum ve endosteumun ayrılması ve pıhtı oluşmasıyla sonuçlanan şiddetli kanamalarla oluşabilir. Yırtılan kan damarı, kırık bölgesindeki Volkman kanalını, havers sistemini, periosteum ve endosteumu besleyen kan damarı olabilir. Kan dolaşımının bozulduğu alandaki osteositler ölmeye başlar, periosteum ve endosteum nekroza uğrar. Akut yangı, kan pıhtısını ve nekrotik dokuyu temizlemek üzeri fogositik hücreleri bu bölgeye çağırır. Yeni kan damarları bölgeye gelir ve kemik yapımını başlatır. Kemik oluşumu, bölgeye kan dolaşımı sağlanmadan başlanmaz (Reece 2009).

1.6. Kemik Yapım Belirteçleri

Kemik yapım belirteçleri, genellikle osteoblastların sentez kapasitesinin etkinliğinin değerlendirildiği belirteçlerdir. Serum numunesi üzerinden yapım belirteçlerinin aktivitesi ölçülebilmektedir. Kemik yapım belirteçleri; ALP, osteokalsin, prokollajen Tip I telopeptitler (prokollajen I-C terminal ve prokollajen I-N terminal) dir.

Çizelge 1.1.Kemik Formasyon Belirteçleri(Seibel 2000)

Parametre	Kaynaklandığı doku	Özgüllük	Örnek
Kemik alkalen fosfataz	Kemik	Osteoblast hücrelerin spesifik ürünü	Serum
Osteokalsin	Kemik	Osteoblast hücrelerin spesifik ürünü	Serum
Prokollajen Tip I Telopeptitler; Prokollajen I-C Terminal (PICP) Ve Prokollajen I-N Terminal (PINP)	Kemik ve karaciğer	Kemik ve Karaciğer hücrelerinin spesifik ürünü	Serum

1.6.1. Alkalen Fosfataz(ALP)

Alkalen fosfataz enziminin kemik kalsifikasyonunda ve kemik metabolizmasında etkin bir rol oynadığına, ilk defa 1923 yılında Robinsin tarafından dikkat çekilmiştir (Yıldırım 2001).

Alkalen fosfataz, hidrolaz bir enzimdir. Çeşitli moleküllerden fosfat grubu koparılmasını sağlarlar. Bu nedenle alkalen fosfataz olarak adlandırılmıştır. Enzimin aktivite gösterebilmesi için magnezyum ve çinkoya ihtiyaç duyar. Enzimin inaktive olması için kalsiyum ve inorganik fosfat gereklidir (Haspolat ve Söker 2002). Optimal etkinliğini alkali ortamda sağlar. Alkali ortamlarda fosfo monoesterleri hidroliz edip fosfor açığa çıkararak, kendilerine tekabül eden alkol, fenol veya şekerlere çevrimini kataliz eden bir enzim grubudur (Yıldırım2001).Vücudumuzdaki ALP hemen hemen tüm dokularla bulunmakla birlikte, büyük bir kısmı kemik ve karaciğer olmak üzere, bağırsak, böbrek, plasenta, pankreas, tiroid bezi, diş minesinden kaynaklanmaktadır (Nillson veGranström 1987, Uzunoğlu1998, Şen ve ark 2002). Alkalen fosfatazın spesifik doku izoenzimleri arasındaki temel fark enzimlerin yapısında bulunan farklı oranlardaki sialik asittir (Haspolat ve Söker2002). 1954 yılında kağıt elektroforezinde iki bandın gözlenmesiyle ALP'nin farklı formlarda olabileceği ortaya çıkmıştır (Yenson 1984). Yine kemik, karaciğer ve böbrek ALP izoenzimleri aynı genin ürünü olmalarına rağmen, dokuya spesifik posttranslasyonel glikolizasyon farklılıkları nedeniyle ayrı fizikokimyasal özellikler gösterirler. Kemik yapımındaki artış ile beraber ALP seviyesi artar, azaldığında ise düşer(Uzunoğlu 1998). Osteoporotik hastalarda serum ALP aktivitesi normalin iki katını geçmektedir, yani normal seyirinden daha yüksek değerlere çıkmaktadır. Ayrıca ALP yarılanma ömrü bakımından osteokalsine göre daha kullanışlı bir parametredir (Çetiner ve ark 2001).

Büyüme dönemindeki bireyler ve erişkin bireyler arasında ALP miktarı farklılık gösterebilir. Büyüme dönemindekilerde erişkinlere göre kemik büyümesinden dolayı 2-3 kat fazla olabilir. Post menopozal dönemde kemik döngüsündeki artışa bağlı olarak serum ALP normalin 2 katına yükselir. Osteomalazi ve benzeri kemik rahatsızlıklarında ALP düzeyi artış göstermektedir. Safra tikanıklarında, paget gibi kemik rahatsızlıklarında, paratiroid hormonun aşırı salgılandığı hiperparatiroidizm durumunda, metastaz yapmış kemik tümörlerinde ALP değeri normalden daha yüksek seviyede gözlenmiştir (Deacon ve Hulme1987). Kemik Alkalin fosfatazı (B-ALP) osteoblastlar tarafından yapılır. B-ALP kemik döngüsünün yapım aşamasında çok yüksek konsantrasyonlarda üretilmekte, genel kemik yapım etkinliği hakkında iyi bir fikir vermektedir (Kıralve Fidancı2002).

1.6.2. Osteokalsin (OC)

Osteoblastlar tarafından sentezlenen osteokalsin, 49 aminoasitten oluşur, üç adet glutamik asit kalıntısı içerir, kemikteki total proteinin % 1'ini oluşturan nonkollajenöz bir proteindir. Hidroksiapatit kristallerine karşı yüksek afinite gösterirler. Kalsiyumun kemik mineraline bağlanmasını sağlar (Haspolat ve Söker 2002). Osteoblastlarca sentezlenir ve kemiğin ekstrasellüler matriksine girer, çok az bir kısmı dolaşıma geçer. 1,25 dihidroksi vitamin D tarafından sentezle uyarılır. K vitaminine bağlı olarak gama-karboksilasyona uğrar ve kalsiyum bağlama yeteneği kazanır. Bu durum K vitamini eksikliğine bağımlı osteoporozu açıklar niteliktedir. Hidroksiapatite karşı yüksek aktivitesi vardır ve kemikte hidroksiapatit kristalleriyle birleşik olduğu düşünülmektedir. Kemik döngüsünün arttığı durumlarda serum düzeyleri yükselmektedir. Ancak yarı ömrü oldukça kısadır ve böbrek tarafından dolaşımdan uzaklaştırılır (Christenson 1997). Hiperparatiroidizm, hipertiroidizm, paget, kırıklar, akromegali, renal osteodistrofi gibi oluşumunun arttığı durumlarda serumda artar. Gebelikte, hipoparatiroidizm, hipotiroidizm, Growth hormon yetersizliğinde azalır. Renal bozukluklardaki artış sebebi böbrek tarafından uzaklaştırılmasından dolayıdır. Serum osteokalsin düzeyi ALP ile paralellik gösterir (Lian ve Gundberg 1987).

Vücut, kemik yıkımı sırasında osteokalsin parçalanır ve molekülün % 70'i dolaşıma girer. Dolaşımdaki OC kemik yapımı sırasında yeni sentezlenmiş veya

yıkım sırasında ortama verilmiş olabilir. Bu nedenle OC'in osteoblast aktivitesi belirteci olup olmadığı tartışılmalıdır. Ancak genel olarak OC osteoblast aktivitesi göstergesi olarak kabul edilmektedir (Cosman 1995).

Osteokalsin, osteoporozun tanısından ziyade uygulanan tedavinin etkinliği hakkında bilgi vermek amacıyla kullanılır. Kemik döngüsü arttıkça serum osteokalsin yükselmektedir. Ancak dolaşımında çabuk yıkılır ve serum düzeyi değişme gösterir. Puberte, primer hiperparatiroidi, renal osteodistrofi ve kemik metastazlarında serum osteokalsin seviyesi artar (Aydil 2005).

1.6.3. Prokollajen Tip I Telopeptitler; Prokollajen I-C Terminal (PICP) ve Prokollajen I-N Terminal (PINP)

Kollajen turnoveri esnasında belirgindir. Yumuşak dokuda tip III, mineralize dokuda ise üçlü heliks yapılı tip I kollajen bulunur. Öncül molekül olarak Prokollajen I tarafından osteoblastlarca sentezlenirler. Kollajen üretimi için iyi bir biyomarkırdır. Kemikğin organik kısmının %90'ını oluşturur. Karboksi terminal ve amino terminal propeptitler tip I kollajenin yapım biyomarkırlarıdır, yıkım biyomarkırları ise karboksiterminal telopeptitlerdir. Fibrillerin oluşmadığı kollajen sentezinde prokollajen peptidlerin C ve N terminalleri, yeni oluşmakta olan molekülden ayrılıp dolaşıma geçerler. Bu peptidler karboksiterminal (PICP) ve aminoterminal (PINP) olarak bilinir ve yeni kollajen sentezinin bir göstergesi olarak kabul edilir. RIA tekniğiyle PICP ve PINP ölçümü yapılabilir. N ve C terminer heliks olmayıp, globüler yapılar içerir. Tip II kollajen kıkırdak dokuda, tip I kollajen bağ dokuda, tip III kollajen ise kemik matriksi, tendonlarda bulunur. Kollajen yıkımında bağlı bulunduğu doku bu açıdan önem arz eder (Haspolat ve Söker 2002, Kırıl ve Fidancı 2002).

1.7. Kemik Yıkım Belirteçleri

Kollajen yıkım ürünlerinin ölçümü kemik rezorpsiyonunda kullanılan biyokimyasal belirteçleri oluşturur. Bunlar genellikle tip I kollajenin indirgenmesiyle oluşur. Kemik yıkımı osteoklastlar tarafından gerçekleştirilmekle birlikte, osteoblastlarda bu işlemde rol oynar. Osteoblast kollajenazları ile kollajenin

yüzev tabakası parçalanır. Osteoklastlar, parçalanan bölgeye hareket eder. Osteoblastlardan aktivatör maddeler salınır ve osteoklastlar bu maddeler tarafından aktive edilir (Öztürk ve ark 2007).

Çizelge 1.2. Kemik Rezorbsiyon Belirteçleri (Haspolat ve Söker 2002)

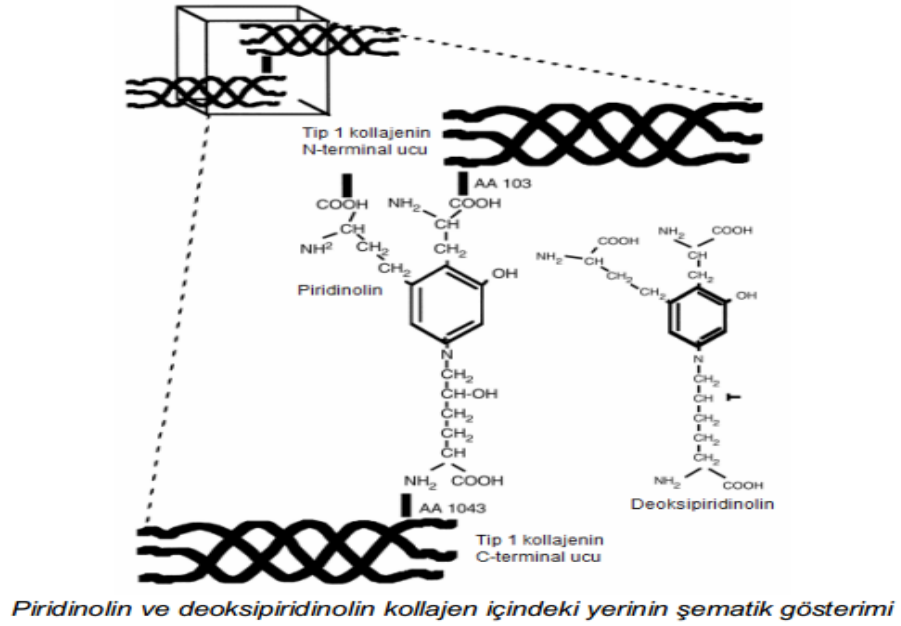
MARKER	KAYNAKLANDIĞI DOKU	ANALİTİK ÖRNEK	ÖZGÜLLÜK
Hidroksi prolin (OH-Pro)	Kemik, Kıkırdak, Deri,Kan, Yumuşak Doku.	İdrar	Bütün kollajenler ve kollajenöz proteinlerde bulunur. Kaynak aldığı dokular çok çeşitli olduğu için kemik doku için spesifikklik düşüktür.
Piridinolin (PYD,PYR)	Kemik, Kıkırdak, Tendon, Kan Damarları	İdrar	Kollajenler kemikte ve kıkırdakta en yüksek, deride yoktur.
Deoksipiridinolin (DPD)	Kemik, Dentin	İdrar	Kollajenler, kemikte en yüksek, kıkırdakta ve deride yoktur.
Tip I kollajen amino terminal çapraz bağ telopeptidi (INTP,NTX)	Kemik, Deri	İdrar	Tip 1 kollajenler, kemikte en yüksek
Tip I kollajen karboksi terminal çapraz bağ telopeptidi b-CTX (Crosslapss)	Kemik, Deri	Serum	Tip 1 kollajenler, kemikte en yüksek
Tartarat-Rezistant Asid Fosfataz		Plazma	

1.7.1. Hidroksipirolin

Kollajenin yapısındaki bir aminoasittir. Prolin aminoasidinden köken alır. Kollajen yıkımıyla serbest hale gelir ve dolaşıma geçer. %90'ı karaciğerde %10'u ise idrarda metabolize olur. Çeşitli kemik metabolizması hastalıkları, akut yangılar ve diyetdeki protein miktarına göre idrardaki hidroksiprolin düzeyi artış gösterir (Basoğlu ve ark 2002). Duyarlılığı ve spesifitesi, kökeninin yalnız kemik kollajeni olmaması ve karaciğerde hızla metabolize edilmesinden dolayı düşüktür. Hyp vücuttaki tüm kollajenin sentez ve yıkımını yansıması ve düşük spesifite göstermesindendolayı yerini daha spesifik yıkım belirteçlerine bırakmıştır (Delmas 1992,Dehaimi ve ark 1999, Kırıl ve Fidancı 2002).

1.7.2. Piridinium Türevleri (Piridinolin (Pyd) ve Deoksipiridinolin(Dpd))

Kollajen; kemik yapıyı oluşturan proteinlerden biridir. Bir kollajen molekülün sonu diğer bir kollajen molekül sarmalı ile kovalent bağ oluşturarak stabil hale gelmektedir. Çapraz bağlar kollajenin dayanaklığını sağlar. Piridinolin ve deoksipiridinolin olmak üzere iki çeşit çapraz bağlı molekül vardır (Robins 1999, Laitinen ve ark 1966).



Şekil 1.2. Piridinolin ve deoksipiridinolin kollajen içindeki yeri

Deoksipiridinolin, olgun kollajen fibriller yıkıldığı zaman ortaya çıkar. İki hidroksilizin ve bir lizin kalıntısının komşu alfa zincirlerinde kondensasyon reaksiyonu ile çapraz bağ oluşturması yolu ile oluşmaktadır. Piridinolin ise üç hidroksilizin kalıntısından meydana gelir. Dpd kemikte, şah damarında, bağ dokuda, diş kemiğinde bulunurken, Pyd kemik dışında kıkırdak, tendon, ligament ve kan damarlarında da bulunmaktadır. İdrarla atılmaları diyet kollajeninden etkilenmez. Kemik yapım ve yıkımı bir arada yürüdüğünden, bu maddelerin idrarla atılan miktarları kemik turn-over hızının bir göstergesidir (Schlemmer ve ark 1992, James ve ark 1996, Kent 1997, Cui ve ark 2004). Osteoporoz, paget, hiperparatiroidizmde idrardaki konsantrasyonları artmaktadır (Schlemmer ve ark 1992, James ve ark 1996).

1.7.3. Tip-I Kollajen Çapraz Bağlı Telopektitleri

Tip 1 kollajenin yıkımı sırasında çapraz bağların %40'ı piridinum çapraz bağları olarak salınır. % 60'ı ise, peptide bağlı çapraz bağlar halindedir. Tip1 kollajenin C-terminal ve N-terminal olmak üzere iki tip bölgeden çapraz bağ sentez bölgesi vardır. Bu bağlar yıkımı gösteren en spesifik testlerdir (Kırılve Fidancı 2002).

1.7.3.1. C-Terminal (CTX)

Üç polipeptid zincirinin çapraz bağlanmasıyla CTX yapısı oluşmaktadır. Kemikğin osteoklastik bozulma sürecinde, tip I kollajenin C telopeptidinden dağılan bir çeşit ürün dolaşıma salınır ve idrar ile atılır. Bu yıkımın fraksiyonu Crosslamlar ELİSA yöntemi ile ölçülür. Yıkımdan sonra CTX seviyesi yükselir. İdrar crosslamlar HRT, bifosfan tedavileri, kalsitonin gibi antiresorptif rejimlerin izlenmesinde kullanılan bir parametredir. Ayrıca romatoit artrit, multiple miyeloma, karsinom kaynaklı kemik metastazlarında da yükselmektedir. Bununla beraber menopoz öncesi dönemi östrojen tedavisi gibi durumlardaki kemik değişimlerinin ölçülmesi için uygun bir parametre değildir (Kırıl ve Fidancı 2002).

1.7.3.2. N-Terminal (NTX)

Osteoklastlarca kemik kollajenin proteolitik yıkımı esnasında tip I kollajenin çapraz bağlı N-telopektidi(NTX) oluşur. NTX antiresorptif tedaviyle dramatik değişim gösterir. Bifosfan yanıtı izlenmesinde kullanılır. Ancak osteoporoz için diagnostik bir test olarak kullanılmaz. Kemik yıkım oranını saptayan spesifik bir parametredir. Tedavi başlangıcında bazal değer olarak alınırken, tedavi sürecinin izlenmesinde sıklıkla kullanılır (Haspolat ve Söker 2002, Kırıl ve ark 2002).

1.7.4. Tartarat Rezistan Asit Fosfataz (TRAcP)

Aktif kemik yıkımı esnasında osteoklastlardan salgılanan bir enzimdir. Asit fosfatazın 6 adet izoenziminden bir tanesidir. TRAcP kemik, prostat, trombosit, eritrosit, dalakta bulunan lizozimal bir enzimdir. Osteoklastlarda büyük miktarlarda bulunmaktadır ve kemik rezorpsiyonunda salgılanır. Osteomalazi, kemik

metastazları, hipertroidizm, paget hastalığı gibi durumlarda TRAcP seviyesi artış gösterir (Kıral ve Fidancı 2002).

1.8. Kemik Metabolizma Bozukluklarının Klinik Sonuçları ve Belirteçlerin Tanıdaki Yerleri

1.8.1. Osteomalazi

Kemiklerdeki kalsifikasyon bozukluğu, D vitamini noksanlığı, kalsiyum-fosfor metabolizması bozukluğundan ileri gelen genellikle gelişme çağındaki hayvan ve insanlarda gözlenen bir beslenme hastalığıdır. Primer olarak kalsiyum alımındaki eksiklik, sekonder olarak ise düşük fosfor alımı hastalık nedenleri arasındadır (Kutsal ve ark 2013).

Raşitizm hastalığında kemik ve eklem deformasyonu, eklemlerde fonksiyon kaybı, uzun kemiklerde eğilme (X bacaklı görünüm), ileri evrede belde kamburluk ya da yana doğru bükülme gibi klinik belirtilerle gelişme bozukluklarına yol açabilir. Kemiklerdeki değişimler x-ray ışınları ile kolayca tespit edilebilir. Diş gelişimi aksar, bazı hastalarda çene kemiklerinde deformasyon başlar. Kemik dokuda minerelizasyon tam olarak gerçekleşemediğinden doku dayanıklılığının sağlanabilmesi için osteoid ve fibröz dokular artış eğilimine geçer. Raşitizme bağlı olarak serum ALP'de yükselme, serum LDH, kalsiyum, fosfor, demir, çinko, bakır düzeylerinde azalma gözlenmiştir (Ecer ve ark 2005).

1.8.2. Osteitis Fibroza Sistika

Kemikteki dejenerasyona bağlı olarak kistik değişikliklerle ortaya çıkan osteosit fibrozlarıdır. Aşırı parathormon salgılanması, kronik renal yetmezlik, primer hiperparatiroidizm hastalığının klinik belirtileridir. Osteitis fibroz sistikada serum kalsiyum düzeyi normal ya da yüksek, fosfor düzeyi normal ya da düşük, PTH ve ALP yüksek, kalsitrol normal veya yüksektir (Yavuz 2004).

1.8.3. Paget's Hastalığı

Çok fazla kemik dokusu parçalandığı zaman buna bağlı olarak kemik yapımı hızlanır ancak kemikler gelişmiş güzel bir şekilde yapılandıkları için yeni dokular daha

yumuşak ve kırılabilir olur. İdrarda hidroksiprolin artışı belirgindir, serum kalsiyum düzeyi normaldir, serum fosfor düzeyi normal ya da hafif artmıştır. Serum ALP'de belirgin artış gözlenmiştir. İdrar testi seruma göre daha hassasiyet göstermektedir (Kelepouris ve ark 2010).

1.8.4. Hipofosfatazya

Serum ve kemik ALP enzim aktivitesinin eksikliğine bağlı, kemik mineralizasyon bozukluğu ile karakterize olan bir hastalıktır (Bozdağ ve ark 2010).

1.8.5. Osteogenesis İmperfekta(Cam Kemik Hastalığı)

TipI kollajen liflerinin sentezindeki artış, ya da hatalı kollajen sentezi ile karakterize edilebilen kalıtsal bir hastalıktır. Eklemlerde hipermobilite, otoskleroz, deride incelme tarzında durumlar klinik belirtileridir (Aydil 2005).

1.8.6. Osteopetrozis

Osteoklastik kemik rezorpsiyonunda yetersizlik ya da rezorpsiyon kusuru ile karakterize edilebilen kalıtsal bir hastalıktır. Serum kalsiyum, fosfor, ALP düzeyi normaldir (Diniz ve ark 2004).

1.8.7. Osteoporoz

Osteoporoz kelimesi 'porous bone' yani gözenekli kemiğin deliklenmesi anlamına gelmektedir. Bu tanımlama ilk defa 1829'da J.G.Lobstein tarafından yapılmıştır(Baykal ve ark2003).

Osteoporoz, kemiğin dansitesini düşmesiyle kemik kütlelerinin azalması ve kemik yapısının sürekli incilmesi şeklinde oluşan sistemik bir iskelet hastalığıdır. Osteoporozda en önemli nokta kemik dokusunun her hacim birimine düşen kemik kütlesinde azalmanın ölçülmesiyle karakteristik olmasıdır. Osteoporozda kemiğin yapısının incilmesi kemiği daha kırılabilir ve hassas yapmaktadır. Kadınlarda özellikle menopoz sonrası kemik kaybının maksimum olduğu ve osteoporoz riskinin en fazla olduğu dönemdir. Bunun başlıca sebebi östrojen salgısının azalmasıdır. Östrojen hormonu kemik yıkımını hızlandıran bazı proteinleri bloklama

özelliğine sahiptir. Osteoporozda kemik doku, osteoklastların reabsorpsiyon işlevinin osteoblastların kemik yapım işlevinden daha fazla olması sebebiyle küçülür (Kutsal ve ark 2013). Osteoporoz beraberinde bir hastalık içermiyorsa primer osteoporoz, içeriyorsa sekonder osteoporoz olarak sınıflandırılmaktadır (Fenkçi ve ark 2001).

1.8.7.1. Primer osteoporoz

Sebebi tam olarak bilinmemektedir. Kendi içinde 2 grupta sınıflandırılır; idiyopatik ve involusyonel osteoporoz. İdiyopatik osteoporoz ise juvenil ve adult diye iki sınıfta sınıflandırılabilir. İnvolusyonel osteoporoz ise Tip I- Postmenopozal osteoporoz ve Tip II- Senil osteoporoz şeklinde sınıflandırılır (Yavuz 2004).

Tip I OP'da (postmenapozal OP) östrojen yetersizliğine bağlı kemik yıkımı artmakta, kemik formasyonu kemik rezorpsiyonuna göre oldukça azdır, kalsiyum metabolizmasında değişiklikler ve kalsitonin salınımında azalma ortaya çıkmaktadır. Postmenapozal dönemdeki 45-80 yaş arası bayanlarda özellikle de menopoza takip eden 15 yıl içinde belirgin bir şekilde gözlenir. Kadınlarda görünme oranı erkeklerde görülme oranının iki katıdır. Trabeküler kemikte kortikal kemiğe göre daha fazla kemik kaybı gözlenir. Düşük östrojen seviyesi osteoklastik aktiviteyi arttıran sitokin düzeylerinin etkilenmesi, idrarla kalsiyum atılımının artması, parathormon düzeyinde artışı ve 1,25 dihidroksi vitamin D düzeyinin azalmasını tetikler (Kutsal ve ark 2003).

Tip II yaşa bağlı senil OP'da ise trabeküler ve kortikal kemik kaybı eş değerdedir. Öncelikle osteoblast aktivitesinde azalma kemiğin formasyonunda azalmaya neden olmakta, daha sonra kalsiyum absorpsiyonu azalmaktadır. Kemik turnoverında artma formasyonda azalma mevcuttur. Diyetle alınan kalsiyumun da azalmasının olaya katkısı vardır. Ayrıca sekonder hiperparatiroidizm de senil OP' da rol oynamaktadır (Aydil 2005).

Çizelge1.3. Osteoporoz tipleri (Aydil 2005)

	Tip 1	Tip 2
Yaş	45-80	≥80
Kadın/ erkek	6/1	2/1
Kemik tutulumu	Trabeküler	Kortikal/Trabeküler
Kırık lokalizasyon	Vertebra (Crush), Distal Radius	Kalça ,Vertebra
Kemik kaybı	Hızlı	Yavaş
PTH	Azalma, Normal	Artma
Serum Ca ,P	Normal	Normal
ALP	Normal	Normal
İdrarda Ca	Artış	Normal
Ca Emilimi	Artış	Azalma
D vitamini metabolizması	Sekonder Azalmış	Primer Azalmış
Olası patogenez	Östrojen Azlığı	Yaşlanma Ve Sekonder Hiper-Pth

1.8.7.2. Sekonder Osteoporoz

Başka bir medikal durum ya da ilaç kullanımı sekonder OP nedeni olabilir. Kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, cushing sendromu, hiperparatiroidizm, hormonal bozukluklar ve bazı kullanılan ilaçlar (steroidler, glikokortikoidler, heparin, antikonvülzanlar) sekonder Osteoporoz sayılabilir (Kutsal2003).

1.8.7.3. Osteoporoz risk faktörleri ve nedenleri

Kadınlarda östrojen değerlerinin düşmesi, erkeklerde testosteron değerinin düşmesi, hareketsizlik, aşırı zayıflık, alkol tüketimi, diette eksik kalsiyum ve vitamin D alınması, sigara içme, yeme bozukluğu, belli bir süre uygulanan glikokortikoid ve kortizol tedavisi, bazı kronik hastalıklar, kırıklar, östrojen eksikliği, geç menarş, erken menapoz, altı aydan fazla süreli amenora, kısa doğurganlık süresi, ovariektomi işlemi belirli osteoporoz nedenlerindedir. Paratiroid hormonunda yükselme, intestinal kalsiyum emiliminde azalma, kalsitoninde azalma, nulliparite de başlıca osteoporoz nedenlerindedir (Özdemir ve ark 2008).

Kadınlarda osteoporoz görülme olasılığı erkeklere göre iki kat daha fazladır ki bu durum cinsiyetin osteoporoz oluşumunda bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (Kutsal 2003).

Son yıllarda osteoporozun patogenezi ile ilgili genetik faktörler araştırılmıştır. Vitamin D reseptörünü kodlayan genlerdeki genetik varyasyonların Tip I kollajen de yapısal anormalliklere yol açabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kollajen genin ilk

intronun da yer alan Sp-1 ayrılma bölgesinde polimorfizm gözlemlendiği bildirilmiştir. Bunların yanı sıra östrojen reseptör geni, IGF-B ve ApoE genlerin de osteoporoz ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Baykal ve ark 2003).

Karahan ve ark (2015) yapmış olduğu çalışmada da ayrıca çoklu ilaç alımının osteoporotik tedavide göz önüne alınması gereken bir parametre olduğunu belirtmişlerdir.

1.8.7.4. Osteoporoz tanı yöntemleri

1.8.7.4.1. DEXA

The National Osteoporosis Foundation bildirisine göre kemik dansitometresi tanı için yeterli bir metottur. Kemik mineral yoğunluğu x ışınları ile DEXA ile ölçülür. DEXA ile vertebra, kalça, el bileği veya total vücut ölçümleri yapılabilmektedir. Düşük miktarda radyasyonla uygulanan bir işlemdir. Bununla beraber standart aparatlar pahalıdır ve taşınabilir değildir. Daha küçük makinelerle önkol, parmak, topuk kemiği ölçümleri yapılabilmektedir. DEXA volumetrik dansite yerine daha doğru olarak bölgesel dansiteyi (g/cm^2) verir (Kent 1997).

1.8.7.4.2. Kantitatif CT

Doğru volumetrik dansiteyi ve daha ekstrem vücut bölgelerinin ölçümünü yapar. Bununla beraber pahalı ve DEXA ya göre radyasyon oranı daha fazladır (Aydil 2005).

1.8.7.4.3. Ultrason Dansitometre

Kemik dansitometresini hesaplayabilir, iskelet strüktürünü ve kırık riskini gösterip görüntüleyebilir. Cihaz ucuz, taşınabilir ve radyasyon içermez fakat kullanım alanı periferik ve yüzeysel kemiklerle sınırlıdır (Aydil 2005).

1.8.7.4.4. X Ray Absorbsiyometrisi

El kemiklerin dansitesini standardize edilmiş metal ile karşılaştırma yöntemidir. Kırık riskini önceden bildirmek için yeterli değildir (Aydil 2005).

1.8.7.4.5. Biyokimyasal tanı yöntemleri

Bu yöntemler diğer yöntemleri desteklemek için kullanılır. Tek başına bir bağlayıcılığı yoktur. Biyokimyasal olarak eritrosit sedimentasyon hızı, tam kan sayımı, açlık kan şekeri, Total ALP, vitamin D, serum kalsiyum, fosfor, karaciğer fonksiyon testleri, kreatinin, tam idrar tahlili gibi parametreleri ölçülür. Bunların yetersiz gelmesi durumunda ise serum PTH, 25 hidroksi vitamin D, 1-25 dihidroksi vitamin D, TSH, serbest T4, T3, LH, prolaktin, kortizol, FSH, plazma testosteron, östradiol seviyesi, serum proteini, serum elektroforezine bakılır. Osteoporoz taraması osteoporoza predispoze eden prednizon gibi kortikosteroidlerin uzun süreli kullanımı gibi risk faktörlerine sahip erkekler ve menopozdaki bütün kadınlar için önerilir (Lian ve Gundberg 1987).

1.9. Mineral ve Kemik Metabolizmasını Düzenleyen Hormonlar ve Biyokimyasal Parametrelerin Önemi

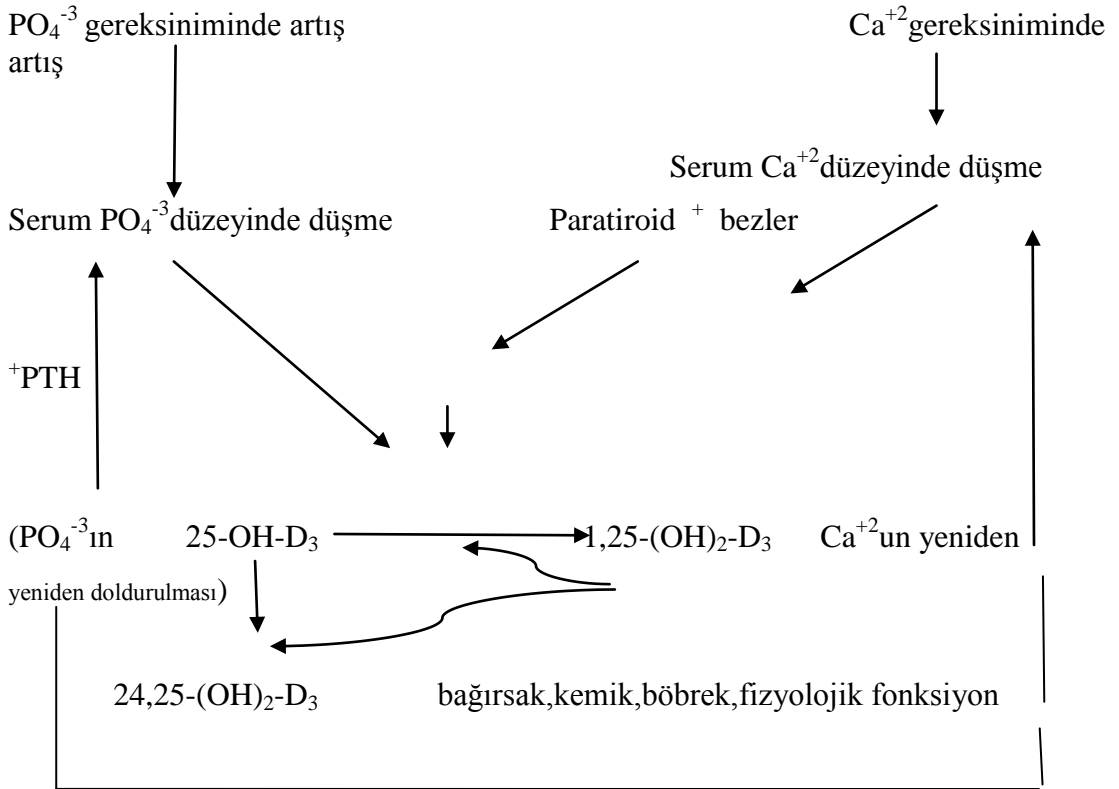
Hormonal ve besinsel faktörler kemik metabolizmasının yeniden şekillenmesinde fonksiyonların ve büyümenin düzenlenmesinde etkilidir. Paratiroid hormon (PTH), 1,25(OH)₂D₃, vitamin A, kalsitonin, glukokortikoidler, insulin, büyüme hormonu (GH), cinsiyet hormonları, tiroid hormonları, insulin benzeri büyüme hormonları (IGF I – II), PG-E2, kemik kökenli büyüme faktörü, sitokinler, kemik ile ilgili proteinler, osteonektin, kemik morfojenik proteinleri, kalsin (OC), kalsiyum, fosfat, flor, magnezyum kemikleşmede, kemiğin mineralizasyonunda rol oynar(Sağlam ve ark2001).Vitamin A eksikliği kemiğin büyümesi üzerine baskılayıcı bir etki yapar. Vitamin C kollajen sentezi için gereklidir eksikliğinde skorbüt hastalığı olur. Kemiğin kalsifikasyonunda dejenerasyona sebep olur (Sağlam ve ark 2001).

1.9.1. Paratiroid Hormon(PTH)

Paratiroid,84 amino asitten oluşan disülfid bağı içermeyen tek bir polipeptid zincirinden oluşan ve peptid yapıda prehormon olarak sentezlenmektedir. Pro-PTH'nin altı aminoasidin koparılmasıyla PTH oluşur. PTH 1-84 en aktif formudur, PTH karaciğerde metabolize olarak N-ve C- terminal uçlarına ayrışır. PTH,

paratiroid bezlerden salgılanır ve kalsiyum homeostazisinin en önemli düzenleyicisidir. Plazma Ca iyon düzeyi düştüğünde PTH salınımı artar (Montgomery ve ark 2000).

Paratiroid hormon, böbrekler ve bağırsaklarda etki göstererek kalsiyumun, fosfatın ve diğer iyonların tubuler transportunu ayarlar ve 1,25 (OH)₂ D'nin üretimini hızlandırır. 1,25 dihidroksikolekalsiferol'de Ca⁺² ve PO₄⁻³'in intestinal absorpsiyonunu artırır. PTH distal tubüllerde kalsiyumun reabsorpsiyonunu artırırken, proksimal tubülde fosfatın reabsorpsiyonunu azaltır. PTH, plazma membranında lokalize olan reseptörlerle hormon- reseptör kompleksi oluşturur, etkilerini böyle gösterir (Pineda 2003, Kalaycıoğlu ve ark 2000). PTH, plazma kalsiyum düzeylerini artırdığı için, düşük kalsiyum düzeyi (hipokalsemi) ile sentezi uyarılır, yüksek kalsiyum düzeyi (hiperkalsemi) ile de inhibe olur. Ayrıca 1,25-dihidroksikolekalsiferol, PTH sentezini inhibe eder (Montgomery ve ark 2000).



Şekil 1.3. PTH döngüsü (Baykal ve ark 2003)

Paratiroid hormonun en belirgin etkileri; kemik rezorpsiyonunda, böbrekte 1α -hidroksilaz aktivitesinde, $1,25$ dihidroksikolekalsiferoldüzeyinde, bağırsaklardan kalsiyum emiliminde arttırır. Yüksek PTH düzeyinde kemik mineral yoğunluğunda(KMY) düşüş gözlenmiştir (Rosen 1999).

1.9.2. Kalsitonin

Tiroid bezinden köken alan 32 aminoasitlik tek bir polipeptid zincirinden oluşmuş bir hormondur. Osteoklast aktivitesini baskılayarak kemik yıkımını azaltmaktadır. Hiperkalsemide kalsitonin salgısı artarken, hipokalsemide bu salgı inhibe olur. Kalsitoninin kemik dokusuna etkisi; kemik dokusu ile hücreler arasındaki kanallardan kemiğe doğru kalsiyum geçişini hızlandırarak kandaki kalsiyum seviyesini düşürürken, kemikteki kalsiyum seviyesini artırarak kemiğe sertlik kazandırır. Ayrıca böbreklerde kalsiyum, fosfat, magnezyum, sodyum, potasyum reabsorpsiyonunu, bağırsaklarda ise absorpsiyonunu düşürür (Yaman 1999).

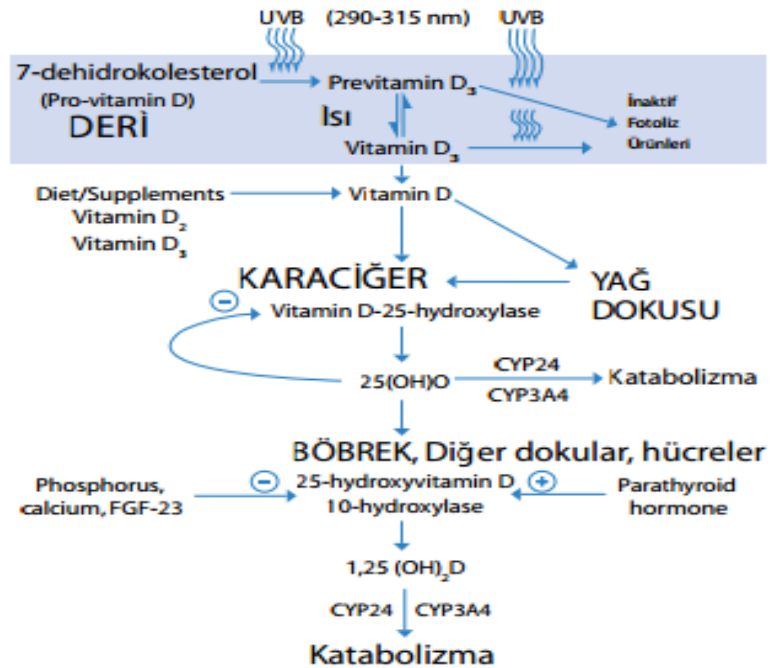
Parathormon ve kalsitonin kemik üzerine zıt etki gösteren birbirlerinin antagonistleridir ve her ikisi de negatif feed back mekanizmaya göre etki göstermektedirler. Bunun nedeni ise ekstrasellüler sıvıda kalsiyum konsantrasyonunun belirli değerler arasında kalmasını sağlamaktır (Talbot ve ark 1999).

1.9.3. Vitamin D

Suda erimeyen, yağda ve diğer organik çözücülerde çözünebilen, lipofilik bir steroldür. İki çeşit D vitamini vardır. D_2 (ergokalsiferol) ve D_3 (kolekalsiferol) olarak adlandırılırlar. D_2 'nin provitamini ergosterol, D_3 'ün provitamini ise 7-dehidrokolesteroldür. D_2 ve D_3 inaktif formdadır ve bu iki molekül arasındaki yapısal farklılık ergokalsiferoldeki 22. ve 23. karbonlar arasındaki çift bağıdır. D_2 vitamini olan kalsiferol, bitkisel kaynaklı bir pro-vitamin olan ergosterol şeklinde besinlerden alınır. Cildin güneş ışığına maruz kalmasıyla ergosterol kalsiferole dönüşür. Kalsiferol karaciğer ve böbreklerde gerçekleşen iki basamakta hidroksilasyona uğrar, asıl hidroksilasyon basamağı böbreklerde 25 -hidroksikalsiferol- 1α -hidroksilaz

enzimi tarafından gerçekleştirir. Ve böylece vitamin D nin en aktif formu olan 1,25-dihidroksikolekalsiferol'e (1,25-dihidroksivitamin D) dönüşür. İkinci D vitamini çeşidi ise dışardan alınmayıp vücutta üretildiği için gerçek bir vitamin sayılmayan bir hormon analog prekürsörü D3 vitamini olan kolekalsiferoldür (7-dehidrokolesterol). Buda karaciğer ve böbreklerde 2 basamaklı hidroksilasyona uğrayarak 1,25-dihidroksikolekalsiferol dönüşür. Birinci hidroksilasyon işlemi 25. karbonda, karaciğerde, 25-hidroksilaz enziminin katalitik etkisi ile gerçekleşir. İkincil hidroksilasyon ise böbrekte 1- α hidroksilaz etkisiyle gerçekleşir. Burada 25-hidroksikolekalsiferol 'den 1,25dihidroksikolekalsiferol oluşur. Bu yolakta parathormon, kan fosfat düzeyini indirerek 1- α hidroksilasyonu artırmaktadır (Bora ve ark 2004, İnce ve ark 2010).

25 hidroksi vitamin D yarılanma ömrü 1,25 dihidroksivitamin D' ye göre çok fazla olduğu için 1,25 dihidroksivitamin D'nin depo formu gibi düşünülebilir (Ecer ve ark 2005).



Şekil 1.4. Vitamin D döngüsü (Pineda 2003)

D₂ ve D₃ vitaminlerinin yağda eridikleri için emilimi safra asitlerinin varlığında ince bağırsakta gerçekleşir. D₃ daha fazla ve çabuk emilir. D vitamininin

aktif ve inaktif formları D vitaminini bağlayan özel proteinlerle taşınırlar. Karaciğer, kas ve yağ dokusunda birikirler. Gerektiğinde dolaşıma salınmaktadırlar (Kutsal ve ark2013).

Plazmada bulunan 25(OH)D₃veya 25(OH)D₂, böbreğin proksimal tubuli hücrelerine gelir ve hidroksilaz enziminin etkisiyle mitokondride 1.25(OH)₂D₃ veya 1.25(OH)₂D₂'ye dönüşerek Aktif D Vitamini metabolitini oluşturur(İnce ve ark2010).

Vitamin D vücutta kalsiyum ve fosfatın tutulmasını sağlar, bunların kan düzeyini ayarlar ve bu iyonların kandan kemik matriksine geçişini sağlamaktadırlar. Vücutta kandaki kalsiyum ve fosfor düzeyi artarsa 1,25 dihidroksi Vitamin D sentezi azalır(Yaman 1999).

D vitaminin aktif metabolitlere dönüşmemesi farklı organlarda kronik sonuçlar doğurabilir. Kronik karaciğer hastalıklarında 25 hidroksilasyonun azalması sonucu 25 hidroksi vitamin D düzeylerinin azalması,kronik böbrek hastalıklarına bağlı olarak: l-hidroksilaz enzim aktivitesinin azalmasına bağlı 25hidroksi vitamin D, 1.25 Dihidroksivitamin D'ye dönüşmemesi sonucu rikets görülebilir. Stronsiyum ve aliminyum böbreklerde l-hidroksilaz enzimini inhibe eder ve 25 hidroksivitamin D, 1,25 dihidroksivitamin D dönüşemez. Kurşun, civa, kadmiyum gibi ağır metal zehirlenmelerinde tubuler zedelenme sonucu 1,25 Dihidroksi vitamin Doluşumu azalır (Ardeniz 2008).

1.10. Osteoporozda Tedavi Yaklaşımları

Tedavinin amacı kemik kitlesini artırmak, kemiği gözenekli yapısından uzaklaştırmak, vertebral ve periferik kırık riskini azaltmaktır. Osteoporotik kırıkların önlenmesinde ve tedavisinde farmakolojik ve nonfarmakolojik yöntemler kullanılmaktadır. Antirezorptif ve anabolik ajan kullanımı en sık rastlanılan farmakolojik yöntemlerdir. İlk tedavi ya da önleyici olarak antirezorptif ilaçlar tercih edilirken, şiddetli osteoporozda anabolik ajanlar tercih edilir. Tedavide amaç kemik rezorbsiyon inhibitörlerini ya da anabolik ajanları kullanarak kemik kaybını minimal seviyeye çekmektir (Baykal ve ark 2003).

Hormon replasman tedavisi, kalsitonin, oral bifosfatanlar, raloksifen, teriparatid, stransiyum ranalet, intravenöz bifosfatanlar, denosumab, paratiroid hormon, osteoporoz tedavisinde Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration-FDA) ve Avrupa İlaç Kurumu (European Medicines Agency-EMA) tarafından onaylanan bazı ilaçlardır.

Osteoporozun önlenmesinde bütün bu ajanların kullanılmasının yanı sıra tedavi stratejisi olarak günlük olarak belirli dozlarda vitamin D alımı da önerilmektedir. Ayrıca buna ek olarak kalsiyum alımı da önerilmektedir. Kalsiyumun daha iyi emilimini sağlamak için kalsiyum karbonatın besinlerle ve kalsiyum sitratın ise aç karnına alınımı önerilmektedir. D vitamini kalsiyumun bağırsaklardan emilimi için gereklidir(Aydil 2005).

1.10.1. Antirezorptif İlaçlar

Antirezorptif tedavi ile osteoklastik aktivitenin inhibisyonu sonucu kemik döngüsü azalır, KMY artar.

1.10.1.1. Bifosfatanlar

Kalsiyum karbonatın çökmesini inhibe edici ajanlardır. İçerdiği fosfat grupları sayesinde kemiğin inorganik kısmına bağlanır ve osteoklast apoptozisini tetikleyerek kemik döngüsünü ve rezorpsiyonunu azaltır. Protogenetik hücrelerin olgun osteoklastlara dönüşümünü engelleyerek osteoklast sayısının azalmasına ve osteoklastik aktivitenin inhibe edilmesini sağlar. Bifosfatanların türüne göre etki yolağı değişmektedir (Sindel 2013).

Çizelge1.4. Bifosfatan türüne göre etki yolağı (Sindel 2013).

Bifosfatan türü	Üzerinden Etki ettiği enzim
Nitrojen İçermeyen Bifosfatanlar (Etidronat, Klodronat, Tiludronat)	Denozin Trifosfat
Nitrojen İçeren Alkilamino Bifosfonatlar (Pamidronat, Alendronat, Neridronat, Olpadronat, İbandronat)	Farnesil Pirofosfat Sentetaz Enzimi
Nitrojen İçeren Heterosiklik Bifosfonatlar (Risedronat, Zoledronat)	Farnesil Pirofosfat Sentetaz Enzimini İnhibe Etme

Bifosfan tedavisi uygulanmış, osteoporozlu hastalarda KMY da artış gözlenmiştir. Ancak yan etkileri olarak da gastrointestinal intolerans, hipokalsemi, renal fonksiyon yetersizliği sayılabilir (Sindel 2013).

1.10.1.2. Selektif östrojen reseptör modülatörleri(SERM)

Selektif östrojen reseptör modülatörleri hormon olmayan östrojen reseptörü antagonistidir ya da agonistidir. Vertebra kırık riskini azaltır. Uterus ve meme hücrelerine anti-östrojen etkisi varken kemik ve lipid profili üzerine östrojen etkinliği vardır (Kanis ve ark 2013).

1.10.1.3. Kalsitonin

Aktif osteoklastları inhibe ederek kemik rezorpsiyonunu azaltır ve renal kalsiyum atılımını artırmasıyla bilinirler. Yapılan çalışmalar sonucu kanser oluşumu tetiklediğinden yan etkisi fazla olduğu için kullanımı kısıtlanmıştır (Özdemir ve ark 2008).

1.10.1.4. Denosumab

Osteoklastik hücrelerin fonksiyonlarını inhibe eder. Nükleer faktör kappa B ligandı reseptör aktivatörüne karşı insan kaynaklı monoklonal IGG2 antikoru olup subkutan olarak kullanılır. Özellikle uzun dönemli kullanımında KMY'yi artırdığına rastlanmıştır. Kemik minareline bağlanmaması, böbrekte emiliminin olmaması, renal bozuklukta hipokalsemi riski görünmemesi açılarından bifosfatlardan daha avantajlıdır (Baykal ve ark 2003).

1.10.1.5. Hormon replasman tedavisi (HRT)

Uzun süreli kullanımda yan etkiler özellikle artan meme kanseri riski kullanımını sınırlamaktadır (Body ve ark 2010).

1.10.2. Anabolik Ajanlar

1.10.2.1. Parathormon ve analogları

En sık kullanımı aralıklı PTH uygulamasıdır. Aralıklı kullanıma sebebi, PTH'un sürekli kullanılması halinde kemik yıkımını yapımından daha fazla artırır, PTH rP(Parathormonla ilişkili protein)'nin sürekli kullanılması kemik yapımını uyarır. PTH osteoblast ve osteoblastogenez ömrünü uzatır. PTH 1-34 (Teriparatid) ve PTH 1-84 tedavide en sık kullanılan PTH formlarıdır.

PTH ve PTHrP PTH tip 1 reseptörü ile karşılıklı olarak N-terminal, C-terminal uçlardan etkileşirler. PTH'nın kemik üzerine hem anabolik, hem de katabolik etkileri vardır. PTH'nın devamlı yüksek seviyesi kemik rezorpsiyonunu artırırken, düşük dozlarda aralıklı olarak verilmesi kemik formasyonunu artırır. Anabolik etkisini osteoblastlar için mitojenik olan IGF-1 ve TGF- β ile gösterir (Hunt ve Idso 1999).

1.10.2.2. Stronsiyum ranelet

İki stabil stronsiyum atomu ve bir molekül ranelik asitten oluşur. Kemik yıkımını baskılayıp yapımını uyarır. Kalsiyuma duyarlı reseptörleri stimüle ederek preosteoblastların osteoblasta farklılaşmasını artırır, osteoblastlardan osteoprotegerin sentezini artırarak osteoklast inhibisyonu yapar. Kalsiyum ile beraber kullanılmamalıdır. Uzun süreli kullanım için uygun bir anaboliktir (Kavas 1998).

1.10.3. Kombinasyonlu ya da Ardışık Tedaviler

İki antirezorptif ilaç kullanımı KMY nu artırır, ancak kırıkların iyileşmesinde bir etki göstermemesi, kemik döngüsünün aşırı baskılanmasından dolayı önerilmemektedir (Papaioannou ve ark 2010).

Östrojen seviyesinin yeterli olmadığı durumlarda HRT (hormon replasman tedavisi) ve bifosfatan ikili tedavisi tercih edilebilir (Body ve ark 2010).

Sıralı tedavi yöntemlerinde ise antirezorptif ilaç uygulamasını takiben anabolik ilaç tedavisi tavsiye edilmektedir. Aynı şekilde teriparatid ve antirezorptif

kombinasyonunda şiddetli osteoporoz durumunda sıklıkla tercih edilir (Baykal ve ark 2003).

PTH tedavisini takiben bifosfatan veya serm gibi kemik rezorpsiyon inhibitörlerinin kullanılması tedavi açısından yararlı etkiyi artırırken, bifosfatanların önce verilmesi durumunda kemik döngüsü aşırı baskılanır ve sonra verilen PTH, denosumab ve stransiyum renalatın etkilerini azaltır ya da geciktirir Kalsiyum ve D vitamini kombinasyonu osteoporoz tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Osteoporoz tedavisinde kalsiyum ve D vitaminin diğer ajanlarla birlikte kullanılması önerilmektedir(Kanis ve ark 2013).

1.11. Osteoporoz Tedavisi İçin Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı Bor

Bor, periyodik tabloda B simgesiyle gösterilen, metalle ametal arası yarı iletken özelliklere sahip bir kimyasal elementtir. Periyodik cetvelin 3A grubunun ilk ve en hafif üyesidir. Bor doğada serbest olarak değil, başka elementlerle bileşikler halinde bulunur. Tabiatta yaklaşık 230 çeşit bor minerali bulunmakta olup teknolojik gelişmelerle birlikte yeni bileşiklerin de keşfedilmesi beklenmektedir. Bor mineralleri bileşimlerinde bulunan kalsiyum, sodyum, magnezyum gibi metallerin oranlarına, içerdikleri su miktarına ve kristal yapılarına göre değişik isimler alırlar (Sınırkaya 1999,Çınk 2001, Yılmaz 2002). Bor elementinin fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda gösterilmiştir.

Çizelge 1.5.Bor Elementinin Fiziksel Ve Kimyasal Özellikleri (Çınk 2001, Yılmaz 2002)

Atom numarası	5
Atom Ağırlığı	10.811 ± 0.005 g/mol
Atom çapı	1.78 Å
Yoğunluğu	2.84 gr/cm ³
Ergime noktası	2300°C
Kaynama noktası	3660°C
Buharlaşma ısısı	128 kcal/g atom
Elektronegatifliği	2.0
Oksidasyon sayısı	3
İyonlaşma enerjisi	191 kcal/g atom

1.11.1. Borun Kimyasal Özelliği

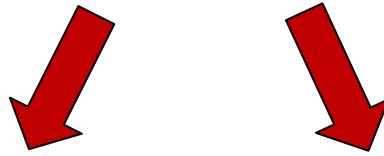
Borik asit; bir Lewis asididir. Hidroksil iyonunu tutar, protonları bırakır. Borun organik bileşiklerle yaptığı kompleksler, hidroksil grup ihtiva eder. Böylece; şekerler, polisakkaritler, adenozin-5-fosfat, piridoksin, riboflavin, dehidroaskorbik asit ve piridin nükleotidler ile etkileşime girebilir. Bor-karbonhidrat komplekslerinde karbonhidrat olarak genelde fruktoz tercih edilir. Örneğin; beta-Frukto-Furanosid-Borat, Alfa-Frukto-furanosid-Borat ve Alfa-Frukto-Piranosid-Borat kompleksleri çok kararlıdır. Tam aksine bor, aminoasit ve hidroksi asitlerle kompleks oluşturmaz. Borik asit ve boraks içermeyen kararsız bor kompleksleri, güçlü elektrofilik, seçici olmayan ve ciddi boyutlarda toksik etkileri olan komplekslerdir. Borun doğrudan proton verici rol oynayarak ve hücre zarı yapısı ve fonksiyonlarına etki ederek canlı sistemlere katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Gregory ve Kelly 1997).

1.11.2. Borun Hormon Metabolizmasına Etkileri

Borun hormonlar ile ilişkisinde tam mekanizma bilinmemekle birlikte iki hipotez öne sürülmektedir:

Çizelge 1.6. Borun Etki Mekanizması Hipotezleri (Beattie and Peace 1993, Nielsen ve ark 1987)

BORİK ASİT



Hidroksilasyon hızını yükselterek steroid hormon sentezini ve hidroksil gruplarının artışı sağlamak (Nielsen ve ark 1987)

Metilasyonu inhibe ederek (durdurarak) hormonların hızlı yıkımını önlemek (Beattie ve Peace 1993)

Borik asit steroid hormonların sentezi için gerek duyulan bir elementtir. D vitamini, testosteron ve 17-beta-estradiol gibi steroid hormonlarının biyosentez basamakları bir veya daha fazla hidroksilasyon basamağı içermektedir. Borik asit lewis asidi özelliğinden dolayı steroid yapılarını hidroksil iyonu eklenmesini kolaylaştırıcı etki yaparak hormonların hızlı bir şekilde inaktive olmasını önleyici bir etki yaptığı düşünülmüştür (Nielsen 1970).

Serumda 17-beta estradiol, östrojen ve testosteron konsantrasyonlarını artırır. Borun cinsiyet hormonlarını artırıcı etkisinden dolayı da kalp krizi riskini önlemede de yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Gregory ve Kelly 1997).

Testosteron molekülünün %98 i kanda proteine, SHGB, albumin, kortizol-binding globüne bağlı bir şekildedir. Bağlı olan hormonlar kan kapilerine giremezler, biyolojik aktivite gösteremezler. Bor ilavesiyle bağlanmamış serbest testosteronun artması hipotezi bağlamında bor vasıtasıyla stereoidlerden daha fazla faydalanıldığı öne sürülmektedir. Biyolojik aktiviteden sorumlu hormon plazmada bağlanmamış halde bulunduğu takdirde vücuttaki diğer birçok mekanizmayı etkileyebilir. Bu nedenle hormon metabolizması ile ilişkili birçok rahatsızlıkta borik asit tedavisinden faydalanılabileceği; borik asit alımının serbest testosteron seviyesini artırabileceği iddia edilmektedir (Naghii ve ark 2011).

1.11.3. Bor ve Sitokinler

Akut bor alımının (11.6mg) plazmadaki B konsantrasyonunu artırdığı gözlenmiştir. 8 erkekle yapılmış bir deneyde ilk gün ilaç verilmeden kan örneği toplanmış, sonra ki günler 7 gün boyunca 10 mg bor kapsül halinde verilerek kan örnekleri toplanıp analize edilmiştir. Saatlik ve haftalık tüketimde plazma borunda artış gözlenmiştir. 6 saatlik kullanımda SHBG, CRP, TNF- α seviyesi azalmış, 7 gün boyunca 10 mg bor kapsül halinde verilerek toplanan kan örneklerinde plazmadaki serbest testosteronun arttığı, plazma östrodiol seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Dihidroksitestosteron, kortizol, vitamin D seviyelerinde artış olduğu ama bor alımından sonra 3 inflamator biyomarkır sitokin (SHBG, CRP, TNF- α) seviyesinin düştüğü gözlenmiştir (Naghii ve ark 2011).

Araştırmacılar bir inflamatör biyomarkırı olan C-reaktif protein seviyesinde düşme gözlenmesi sonucu, CRP seviyesini düşürmeyi amaçlayan ilaç geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında borun, yeni bir alternatif olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Naghii ve ark2011).

1.11.4. Borun Kemik Metabolizmasına Etkisi

Borik asidin vücutta kalsiyum, fosfor, magnezyum homeostazında etkin rol oynayarak kemik metabolizması üzerine etki ettiği ileri sürülmüştür. 1994 yılında kadın atletlerde yapılan çalışmada bor ilavesinin kandaki fosfor düzeyini azalttığı ve magnezyum konsantrasyonunu artırdığı göstermiştir. Bu iki parametre kemik metabolizması üzerinde önemli etkilileri bulunmaktadır (Meacham ve ark 1995).

Borik asitosteoartirit, osteoporoz ve romatoid artirit'in tedavilerinde iyileştirici bir rol oynadığı düşünülmektedir. Günlük 3mg bor alımının menopozlu kadınlarda serum östrojen düzeyinde yükselme gösterdiği bildirilmiştir. Bu etkinin osteoporoz tedavisi için borik asidin önemini göstermektedir(Nielsen ve ark 1987,Wegman ve ark 1994).

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda(Hunt ve ark 1993,Dupre ve ark 1994, Mastromatteo ve Sullivan 1994, Naghii ve Saman 1996) ise diyete eklenen borun, vitamin D eksikliğine bağlı ciddi hipokalsemiye karşı koruyucu olduğu saptanmıştır.

Kemik dokusunun gelişmesinde diyetin rolünün araştırıldığı bir çalışmada(Ghanizadeh ve ark 2012); normal metabolik fonksiyon ile kemiğin güçlenmesini geliştiren gerekli bileşenler; kalsiyum, fosfor, magnezyum, kalsiyum gibi majör elementler ve bakır, çinko, bor gibi iz elementler kemiğin fonksiyonuna, kemiğin kütlesine, sertliğine etki gösterdiğini saptamışlardır.

Bor tüketiminden sonra steroid hormon seviyesinde artış gözlenmiştir. Kemiğin mekanik özelliğini daha iyi bir şekilde ölçmek için bor ilavesi incelenmiştir, farklı kalsiyum seviyelerinde bor ilavesinin etkilerini daha da ayrıntılı bir şekilde belirlemek için uzun dönemli bir çalışma yapılmıştır. Bor eksikliği kemik sağlığında değişmelere sebep olduğu görülmüştür (Gorustovich ve ark2008,Onat ve Konut 2004).

Hunt (1998) 12 menopozlu kadın denek ile yapmış olduğu bir çalışmada deneklere 119 gün boyunca 0,25mg/kg borik asit verilmiş, daha onrada 48 saatlik periyotlarla 3 mg/kg borik asit verilmiş. Borik asit takviyesi yapılan grupta idrarda kalsiyum ve mgnezyum oranında artış, serumda ise 17-β estradiol,25-hidroksikolekalsiferol ve testosteron miktarında artış gözlenmiştir.

D₃ vitamini eksikliği olan farelere 9 hafta boyunca birçok meyve ve sebze bulunan bor-fruktoz kompleksi içeren bir karbonhidrat olan Fruitex-B adında bor içerikli bir tablet verildiğinde kemik kütlelerinde %5,8'e yakın bir artış gözlenmiştir (Mastromatteo ve Sullivan 1994).

Borik asidin osteoartriti önlemede ve tedavi etmedeki rolü klinik deneylerle kanıtlanmıştır. Günlük bor alımının 1mg'dan az olan bölgelerde osteoartrit görülme oranı %20-70 arasında iken,günlük bor alımının 3-10 mg olduğu bölgelerde bu oran %10 lara kadar düşmektedir(Nielsen ve ark 1987).

Kemiğin şekillenmesinde ve onarımında bor mineralinin etkin olarak rol aldığı iddia edilmiştir(Ghanizadeh ve ark 2012).

Bor, sıçanlarda, ağrı ve ödemi azaltıcı etkisi yanında kronik artritte iltihaplanmayı azaltmada etkili bulunmuştur. İnsanda 6 mg bor/gün'ün artritik ağrı, şişme ve sertliği azaltıcı etkisi olduğu görülmüş, bu etkiyi dokuda, siklik adenozin monofosfat seviyelerini arttırarak ve böylece lizozomal enzim aktivitelerini durdurarak yaptıkları saptanmıştır. Farelerde, diyeteye 8 mg/kg/gün bor eklenmesinin idrarda inorganik kalsiyum, fosfor, hidroksiprolin konsantrasyonunu azalttığı, ancak kanda yükselttiği görülmüştür (Newnham 1994).

Romatoid artritli kişilerin sinoviyal sıvı ve kemiklerinde düşük bor konsantrasyonu saptanmıştır (Hunt ve ark 1989, Newnham 1994).

Bor elementinin kemikte kırık iyileşmesinde de etkin olduğu bulunmuştur (Newnham 1994).

Yumuşak dokulardaki bor, kan düzeyine yakın seviyelerde olmasına rağmen, kemikteki bor konsantrasyonu hemen her zaman yumuşak dokuların ve kan bor

konsantrasyonunun üzerinde seyretmektedir. Yağ dokusu, kas dokusu, kalp, akciğer ve barsak daha az miktarda bor içermektedir. Yağ dokusunun özellikle az miktarda bor içermesi sürpriz değildir. Bu, borik asidin yüksek polar (kutuplu) özellik taşıması nedeni ile nonpolar yağ dokusunda birikimi olmamasına bağlıdır (Moseman 1994, Naghii ve Saman 1996).

Bor cinsiyet hormon aktivitesini ya da sentezini arttırarak kemik mineralizasyon dengesini değiştirebilir (Naghii ve ark 2011).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Materyal Toplanması ve Örneklerin Hazırlanması

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları ünitesinden Yaklaşık 12-14 haftalık, ortalama 180-250gr ağırlığında gebe olmayan Wistar tipi 60 adet dişi rat alınarak çalışmaya başlandı. Deney süresince bütün ratlar bağıl nem oranı %40-60, optimal ısıda (22C°) de,12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortam sağlanacak şekilde 425 x 265 x 180 mm boyutlarında şeffaf polikarbonat malzemedan üretilmiş kafes üstlükleri paslanmaz çelikten olan kafeslerde barındırıldılar. Deney sürecinde su ve pelet yem ihtiyaçları ad libitum olarak karşılandı. Çalışmaya başlamadan önce Adnan Menderes Üniversitesi HADYEK kurulundan etik kurul onayı alındı(etik kurul no:64583101/2013/029). Ratların günlük bakımı her gün saat 15: 00-17: 00 arasında yapıldı. Deneysel çalışmamızı etkilemeyecek şekilde diyet yem seçildi. Seçilen yemin içeriği aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 2.1. Yem Analiz Sertifikası

ANALİZ SERTİFİKASI	
Kuru madde	En az %88
Ham protein	En az %23
Ham selüloz	En az %7
HCl de çözünmeyen kül kalsiyum	En az %1
Fosfor	En az %0.9
NaCl	En az %1
Metabolik enerji	En az 2600 K.cal/kg
VİTAMİNLER	
Vitamin A	400IU/kg
Vitamin D3	300IU/kg
Vitamin E	60mg/kg
Vitamin B2	4mg/kg
Vitamin B12	50mg/kg
Vitamin K3	1mg/kg

Alınan ratların hepsi rastgele her grupta 10 adet hayvan olacak şekilde 6 grubu ayrıldı. Gruplara yapılan işlemler aşağıdaki tabloda sıralanmıştır.

Çizelge 2.2.Gruplara Yapılan İşlemler

Grup No	Yapılan işlem
1	Ovariectomi yapıldı
2	Ovariectomi ve borik asit (5 mg/kg) uygulandı
3	Ovariectomi ve borik asit (10 mg/kg) uygulandı
4	5 mg/kg Bor uygulandı
5	10 mg/kg Bor uygulandı
6	Kontrol grubu (yalancı ovariectomi yapıldı)

Operasyon uygulanacak gruptaki ratlar operasyondan önce 6 saat süreyle aç ve susuz bırakıldı. Genel anestezi için 85 mg/ml ketamin HCl ve 15 mg/ml Ksilazin karışımından 0.5 ml/kg dozunda kas içi uygulandı. Operasyon bölgesi (abdominal bölge) traş edilerek polvinilpirolidon ile dezenfekte edildi. Ovariectomi işlemi için linea alba üzerinde 2 cm'lik suprapubik enzisyon hattından karın boşluğuna girilerek, her iki ovaryumun mezovaryum bölgesinden ve kornu uteriye bağlandığı bölgelerden ligatüre edilerek her iki ovaryum kesilerek dışarı alındı. Peritoneal açıklık 4-0 emilebilir dikiş materyali kullanılarak, deri ensizyonu ise 2-0 dikiş materyali ile basit ayrı dikişler kullanılarak kapatıldı. Shame grubunda ise genel anestezi altında periton boşluğu açılıp, ovaryumlar alınmaksızın benzer dikiş materyali ile ensizyon hattı kapatıldı. Postoperatif 3 gün boyunca 10mg/kg dozunda enrofloksasin kas içi olarak uygulandı (Virginia ve Richardson 2003).Anestezi ve operasyonlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi. Birinci, ikinci ve üçüncü gruptaki ratlara ovariectomi işlemi, altıncı gruptaki ratlara yalancı ovariectomi işlemi eşzamanlı olarak uygulanmıştır. Dördüncü, beşinci ve altıncı gruptaki ratlara ise operatif herhangi bir işlem uygulanmadı. Operasyonları takiben 8 hafta sonra 20 gün boyunca ikinci ve dördüncü gruba 5 mg/kg borik asit, üçüncü ve beşinci gruba 10mg/kg borik asit gavaj yöntemi ile verildi. Bu süre içerisinde birinci ve altıncı gruba borik asit uygulanmadı.

Literatürlerde sıçanlarda ovariectomi sonrası kemik kaybının 2 haftadan sonra başladığı, en yoğun kaybın ise 100 gün içinde gözlemlendiği bildirildiğinden (Murray 1998, Ömeroğlu ve ark2003, Wronski ve ark 1989) .Borik asit uygulamasına operasyondan 2 hafta sonra başlandı. WHO'nun 1988 deki çalışmasında borik asidin; çeşitli hayvan türlerine ve bu hayvan türlerindeki ağırlıklarına göre verilmesi gereken

borik asit miktarı, borik asidin verilme şekli hangi dozun üstünde borik asidin toksik olacağı belirtilmiştir. Borik asit dozu ve ovariektomi kombini ile yapılan çalışmaları içeren literatürler ortak bir görüş birliği içermedikleri için 1988 yılındaki bu yayın referans alınarak, borik asit değerlerinin ortalaması olan iki değer bu çalışmada referans değerler olarak seçildi(Weir ve Fisher 1972). Borik asit dozu WHO'nun 1998 yılındaki verileri ve diğer çalışmalar göz önüne alınarak 5 mg/kg ve 10 mg/kg olarak belirlendi(Jerroldve ark 1992). Borik asit 20 gün boyunca uygulandı. 21. gün sonunda kan örnekleri eter anestezisi altında kalpten alınarak dekapitasyon işlemi gerçekleştirildi.

2.2. Kullanılan Cihazlar

Analizler sırasında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, UV-spektrofotometre, santrifüj Microplate Reader, hassas terazi, vorteks, manyetik karıştırıcı cihazları kullanıldı.

2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Analizler sırasında kimyasal madde olarak SnCl₂.2H₂O (Carlo erba), KH₂PO₄ (Carlo erba), HCl (Sigma-aldrich), TCAA (MERCK), (NH₄), 6Mo7O₂₄.4H₂O (Carlo erba), CH₃OH (Sigma-aldrich), NaOH (Carlo erba), Glyoxal25 bis-(2-hidroksianil) (MERCK), CaCO₃ (MERCK), NaCl (MERCK), Na₂HPO₄ (MERCK), KH₂PO₄ (Riedel-de Haëk) kullanıldı.

2.4. Yöntem

2.4.1. Kan Serumunda Kalsiyum Miktarının Glyoxal-bis Metoduyla Tayini

Glyoxal-bis yüksek pH'da kırmızı renk verdiği için Ca tayininde tercih edildi. Diğer +2 değerlikli katyonların varlığında Glyoxal-bis'in kalsiyumu şelatlayıcı özelliği kullanılarak ölçülmesi esasına dayanan metotla gerçekleştirildi (Bellinger ve Campbell 1965).

Ayır a lar

1. Metanol

2. Glyoxal-bis-(2-hydroxyanil): 100 mg Gloxyal-bis 100 ml metanolde eritildi. Kahverengi ŐiŐede saklandı.

3. 2 N Sodyum hidroksit

Yapılışı:

İki adet deney tüpü test ve blank olarak iŐaretlendi. Test yazılı tüpe 10 l serum, blank tüpüne ise 10 l distile su konuldu. Bundan sonra her iki tüpe 500'er  l distile su ve 500'er  l Glyoxal-bis konup, karıştırıldı ve 30 sn çalkalandı. Takiben 15 dakika beklendi. Bekleme s resinin sonunda her iki tüpe de 50'Őer  l 2N NaOH ilave edildi ve 30 saniye çalkalandı.  alkalama işleminin sonunda 15 dakika daha beklendi ve distile suya karşı 546nm'de absorbandslar okundu.

Hesaplamalar

(Testin Absorbansı-K r n Absorbansı) x 26 = mg Ca/100 ml serum

2.4.2. İnorganik Serum Fosfatın Kalay Klorid Kullanarak Belirlenmesi

Biyolojik materyallerde fosfatın belirlenmesinde Kalay Klorid indirgeyici ajan olarak kullanıldı. Asidik ortamda fosfat iyonlarıyla amonyum molibdat reaksiyona girdi ve amonyum molibdifosfat oluŐtu. Bu oluşan ürünün kalay kloride ile reaksiyona girmesiyle meydana gelen mavi rengin 660 nm'de spektrofotometrede  l lmesi esasına dayanan metotla gerçekleŐti (Davies ve ark 1973, Horwitt 1952).

Ayır a lar

Solüsyon A: % 10 triklorasetik asit

Solüsyon B: %1 amonyum molibdat

Solüsyon C: 10 ml HCl içinde 3 g kalay klorid

Solüsyon D: 100 ml distile su içinde 0,2 ml solüsyon C

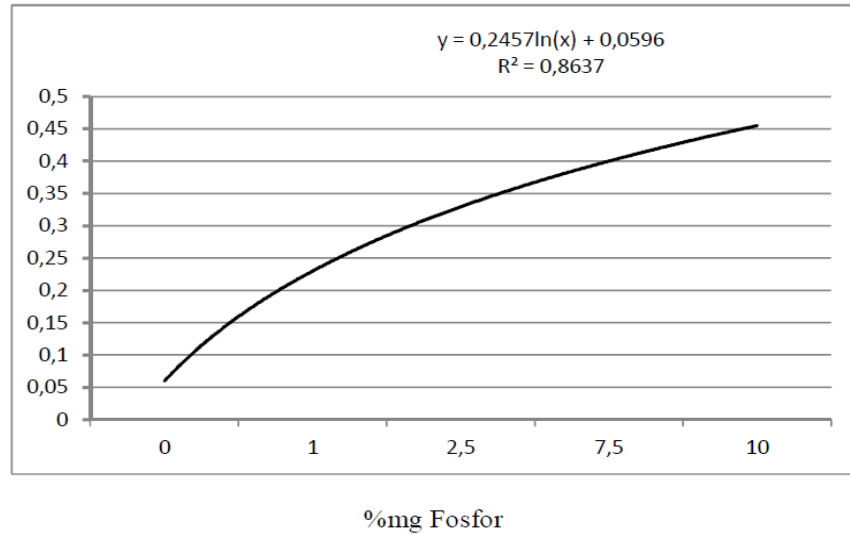
Solüsyon E: %15 trikloroasetik asit

Yapılışı

Proteinsiz süzöntü hazırlamak için 0,4 ml seruma 3,5 ml su eklendi. Daha sonra %15'lik trikloroasetikasitten 1 ml karışıma eklendi, karıştırıldı. Sonra karışım 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatanttan 0,5 ml alındı, üzerine 5 ml solüsyon A eklendi ve karıştırıldı. Karışıma solüsyon B'den 0,5 ml eklendi, karıştırılıp 7 dakika beklendi. Daha sonra solüsyon D'den 0,5 ml eklendi ve karıştırıldı. 15 dakika sonra 660 nm'de spektrofotometrede okutuldu.

Fosfor Stok Standardı; 0,4394 mg saf susuz KH_2PO_4 'ü distile suda çözüldü ve 100 ml'ye dilüe edildi.

Fosfor Çalışma Standardı; 5 adet cam tüpe sırasıyla 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10.0 ml hazırladığımız stok standardından koyuldu ve 100 ml'ye tamamlandı. Sonra 5 ml solüsyon A eklendi ve karıştırıldı. Daha sonra solüsyon B'den 0,5 ml eklendi, karıştırıldı ve 7 dakika beklendi. Son olarak solüsyon D'den 0,5 ml eklendi ve karıştırıldı. 15 dakika sonra spektrofotometrede 660 nm'de okutuldu.



Şekil 2.1. P standart eğrisi

2.4.3. 25-Hidroksi Vitamin D Tayini

Rat serumlarında CSB-E08098r katalog numaralı rat 25-hydroxy vitamin D3, 25 hidroksi vitamin D ELİSA kit kullanılarak 25 hidroksi vitamin D3 seviyesi ölçüldü. ELİSA Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay tekniğinin kısaltılmış adıdır. Bu yöntem antijen antikor kompleksi oluşturup antikorlara özgü enzimlerin antikorlara bağlanması ve daha sonra antikora bağlanmış olan enzimin uygun kofaktörü ve substratı kullanılarak oluşan ürün kompleksindeki renk değişiminin ölçülmesi yoluyla enzimin aktivitesinin kantitatif olarak belirlenmesi esasına dayanan bir yöntemdir(Ghosal ve Srivastava2013).

Testte yarışmalı ELİSA yöntemi uygulanmıştır. Kitteki plate tamamen antikor ile kaplıdır. Standartlar ve örnekler 25HVD3 konjugat HRP(horseradish peroksidaz) ile birlikte antikor kaplı plate aktarıldı. Yarışmalı inhibisyon örneklerdeki 25HVD3 ile HRP konjugat 25HVD3 arasında olmaktadır. Reaksiyonu gözleyebilmek için ortama substrat çözeltisi ilave edildi. Örneklerdeki 25HVD3 miktarıyla ters orantılı olacak şekilde renk değişimi gözlemlendi. Stop solüsyon ile reaksiyon durduruldu ve ölçüm yapıldı.

2.4.4. 1,25-Di Hidroksi Vitamin D Tayini

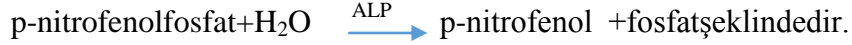
Rat serumlarında CSB-E13342r katalog numaralı rat 1,25-dihydroxy vitamin D3,HVD3 ELİSA kit kullanılarak 1,25-dihydroxy vitamin D3 seviyesi ölçüldü. Serum veya plazmada 1,25-dihydroxy vitamin D3 ve diğer hidroksillenmiş metabolitleri arama esasına dayanan bir metottur.

Çalışmada yarışmalı ELİSA yöntemi uygulanmıştır. Kitteki plate tamamen antikor ile kaplıdır. Standartlar ve örnekler 1,25HVD3 konjugat HRP(horseradish peroksidaz) ile birlikte antikor kaplı plate aktarıldı. Yarışmalı inhibisyon örneklerdeki 1,25 HVD3 ile HRP konjugat 1,25HVD3 arasında olmaktadır. Reaksiyonu gözleyebilmek için ortama substrat çözeltisi ilave edildi. Örneklerdeki 1,25HVD3 miktarıyla ters orantılı olacak şekilde renk değişimi gözlemlendi. Stop solüsyon ile reaksiyon durduruldu ve ölçüm yapıldı.

2.4.5. Alkalen Fosfat'ın (ALP) Kantitatif Tayini

Rat serumlarında alkalen fosfataz seviyesi ticari bir kit(cusabio)(1001131 referans numaralı rat alkaline phosphatase kiti) ile ölçüldü.

Deneyde oluşan reaksiyon;



Deneyin prensibi; P-nitrophenol fosfatın ALP katalizörlüğünde, pH 10,4de hidrolizlenmesi ile sarı renkli p-nitrofenol ve fosfat açığa çıkar. Oluşan P-nitrophenolün kolorimetrik olarak ölçülmesi yoluyla serumdaki alkalen fosfataz miktarını ölçülmesi esasına dayanır.

2.5. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (for Windows Release 11.5 Standart Version Copyright © Spss Inc. 1989-2001) hazır paket programı kullanılarak yapıldı. İki ya da daha fazla bağımsız grubun ortalamalarını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi yapılarak önem testi yapıldı.

3. BULGULAR

Çizelge 3.1.Gruplar Arası Bulguların İstatistiki Değerlendirilmesi

	Ovarektomi	Ovarektomi+5mg Bor	Ovarektomi+10mg Bor	5 mg Bor	10 mg Bor	Kontrol
1-25 OH vitamin D (fmol/l)	2848,58 ±236,26 (n=10) ac	3209,35±498,47 (n=10) a	1809,01±410,31 (n=7) d	2017,61±266,66 (n=10) cd	2930,83±443,8 (n=10) ac	3256,50±249,7 (n=10) a
25-OH VİTAMİN D(µg/ml)	68,32±8,82 (n=10) ac	63,53±11,07 (n=10) ac	55,68±13,07 (n=7) cd	30,40±5,89 (n=10) bd	82,49±5,80 (n=10) a	63,05±9,95 (n=10) ac
MAGNEZYUM (mg/dl)	0,3627±0,29 (n=10)	0,30±0,5 (n=10)	0,30±0,077 (n=7)	0,32 ±0,024 (n=10)	0,33±0,047 (n=10)	0,42±0,55 (n=10)
FOSFAT (%mg)	1,72±0,89 (n=10) b	1,60±0,10 (n=10) ba	1,18±0,29 (n=7) a	1,5129±0,07 (n=10) ba	1,26±0,22 (n=10) ba	1,68±0,11 (n=10) b
ALP (U/L)	109,26 ±12,84 (n=10) a	134,57±21,98 (n=10) a	156,75±26,64 (n=7) ac	209,88±32,4 (n=10) bc	267,97±28,8 (n=10) b	121,73±14,95 (n=10) a
KALSİYUM (mg/dl)	24,72±3,32 (n=10) b	40,05±3,13 (n=10) a	16,47±4,18 (n=7) bc	12,15±0,9 (n=10) c	17,69±2,41 (n=10) bc	33,62±3,18 (n=10) a
PTH (pg/ml)	5,13±0,86 (n=10) abc	5,64±0,64 (n=10) abc	6,80 ±2,51 (n=7) c	3,12±0,96 (n=10) b	4,21±1,42 (n=10) abc	7,0650±1,07 (n=10) a

*Gruplar arasındaki a, b, c, d harfleri istatistiki açıdan önemi ifade etmektedir. Farklı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemlidir(p<0,05).

3.1. 1,25 Dihidroksi Vitamin D Bulguları

Ovarektomi yapılan grubun 1-25 dihidroksi Vitamin D düzeyleri ovarektomi +10mg bor uygulanmış grubun 1-25dihidroksi Vitamin D düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (p<0,05), diğer grupların 1-25dihidroksi Vitamin D düzeyleri ileOvarektomi yapılan grubun 1-25dihidroksi Vitamin D düzeyleri karşılaştırıldığında ise istatistikî açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

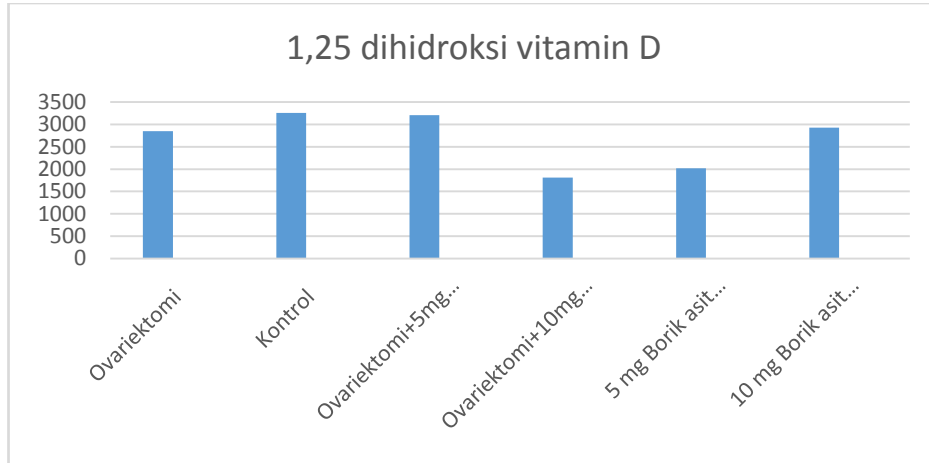
Ovarektomi +5mg borik asit uygulanan grubun 1-25dihidroksi Vitamin D düzeyleri ovarektomi+10mg borik asit uygulanan grubun vitamin düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (p<0,05). Ovarektomi

+5mg borik asit uygulanan grup ile diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Kontrol grubu için; Kontrol grubu ile sadece 5mg borik asit uygulanan grup ve ovariectomi+10mg borik asit uygulanmış grup arasında anlamlı farklılık bulunmuştur($p<0,05$). Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Ovariectomi+10mg/kg borik asit uygulanan grubun 1-25dihidroksi Vitamin D düzeyleri yalnızca 5 mg/kg borik asit uygulanan grubun vitamin düzeyi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gözlenmez iken, diğer gruplarla anlamlı farklılık gözlenmiştir($p<0,05$).

5mg/kg borik asit uygulanan grubun 1-25dihidroksi Vitamin D düzeyleri ovariectomi+5mg/kg borik asit uygulanmış grup ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gözlenirken($p<0,05$) diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 3.2. 1,25 dihidroksi Vitamin D sonuçları grafiği

3.2. 25 Hidroksi Vitamin D Bulguları

Ovariectomi yapılan grubun 25hidroksi Vitamin D düzeyleri sadece 5mg borik asit uygulanan grubun 25hidroksi Vitamin D düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir yükselme bulunmuştur($p<0,05$), diğer gruplar ile arasında ise istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

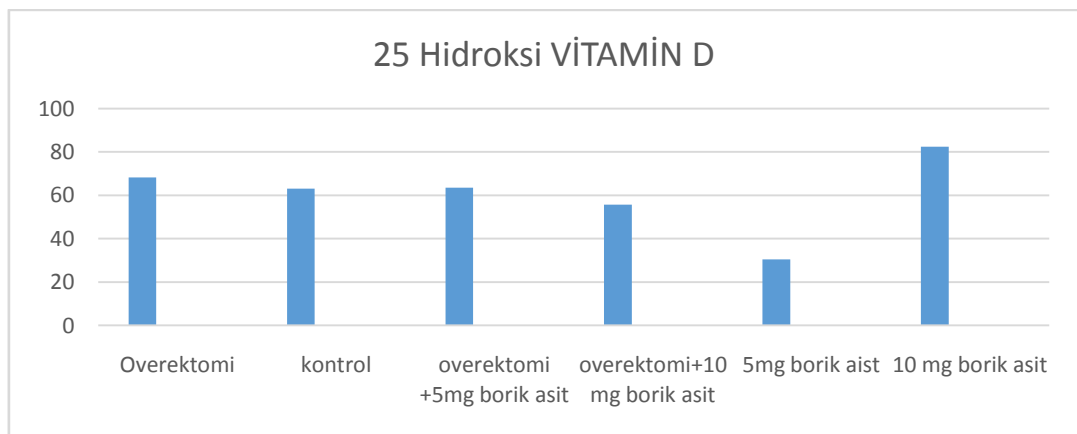
Ovariectomi +5mg/kg borik asit uygulanan grubun 25 hidroksi Vitamin D düzeyleri sadece 5 mg/kg borik asit uygulanan grubun 25hidroksi Vitamin D düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir yükselme bulunmuştur($p<0,05$).

Kontrol grubunun 25hidroksi Vitamin D düzeyleri sadece 5 mg/kg borik asit uygulanan grubun 25hidroksi Vitamin D düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükselme bulunmuştur($p<0,05$), diğer gruplar ile anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Ovariectomi+10mg borik asit uygulanan grubunun 25 hidroksi Vitamin D düzeyleri 5mg borik asit uygulanan grup ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde yüksek ve 10 mg borik asit uygulanan grup ile kıyaslandığında ise anlamlı bir şekilde düşük olduğu bulunmuştur ($p<0,05$), diğer gruplar ile anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Sadece 5mg borik asit uygulanan grubun 25hidroksi Vitamin D düzeyleri ovariectomi+10mg borik asit uygulanan grup dışında ($p<0,05$) bütün gruplardan anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur($p<0,05$).

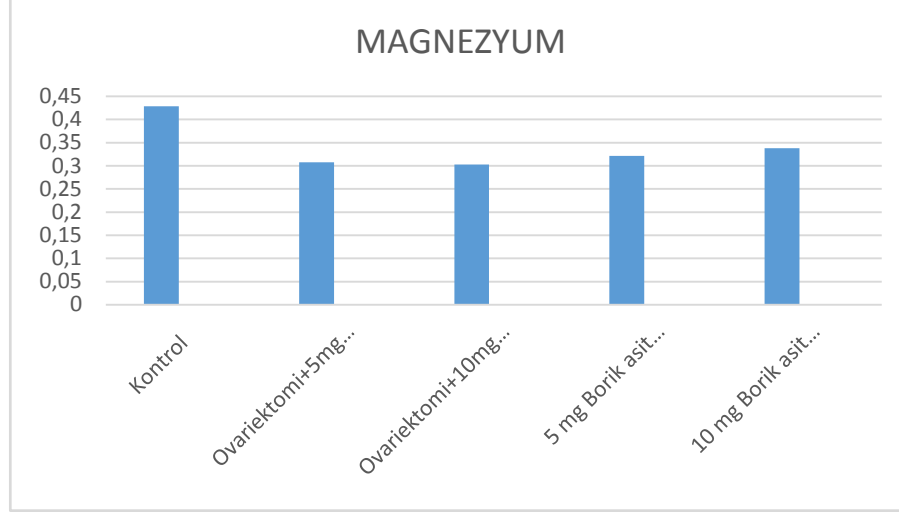
10 mg borik asit uygulanan grubun 25 hidroksi Vitamin D düzeyleri 5mg borik asit uygulanan grup ve ovariectomi+10mg borik asit uygulanan grupların 25 hidroksi Vitamin D düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükselme bulunmuştur ($p<0,05$) diğer grup ile anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 3.3. 25 Hidroksi vitaminD sonuçları grafiği

3.3. Magnezyum Bulguları

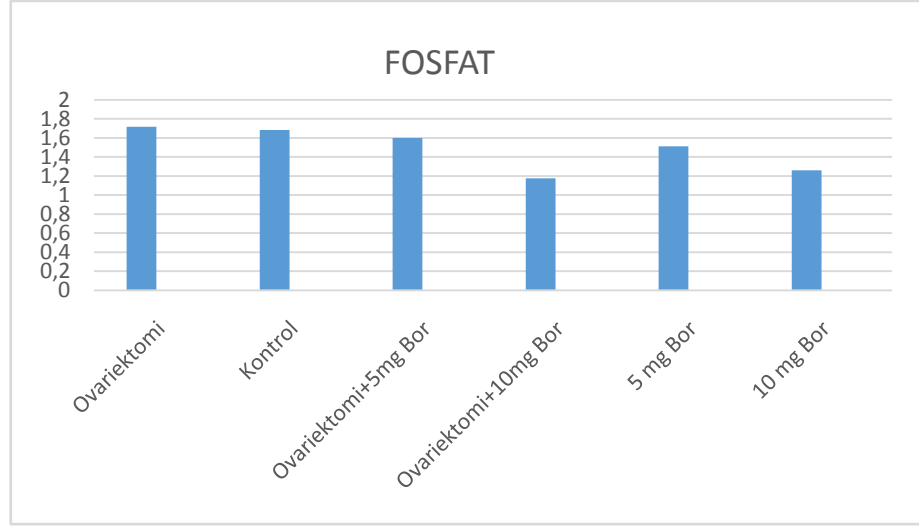
Gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 3.4. Magnezyum sonuçları grafiği

3.4. Fosfat Bulguları

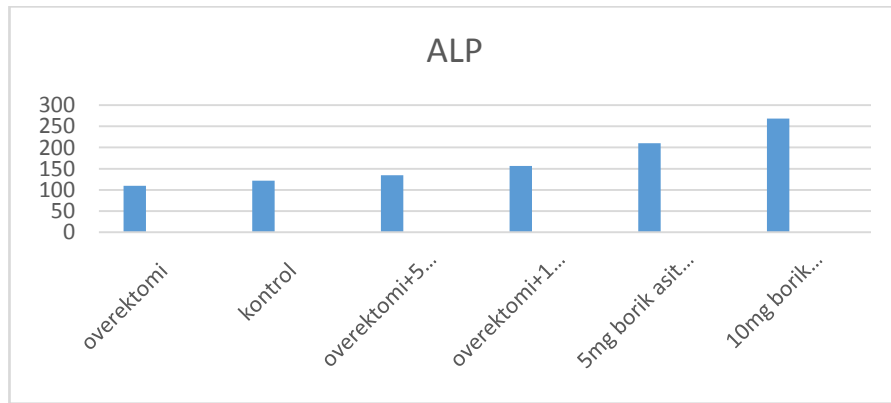
Ovariectomi yapılan grubun serum fosfat düzeyleri Ovariectomi+10mg borik asit uygulanan grubun serum fosfat düzeyi ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Ovariectomi+10mg borik asit uygulanan grubunun serum fosfat düzeyleri kontrol grubun serum fosfat düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer grupların serum fosfat düzeyleri ile Ovariectomi yapılan grubun serum fosfat düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



Şekil 3.5. Fosfatsonuçları grafiği

3.5. ALP Düzeyleri

Yalnızca 5mg borik asit ve 10 mg borik asit uygulanan grupların serum ALP düzeyleri, diğer dört gruptan yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Ancak ovariectomi+10mg/kg borik asit uygulanan grup ile 5mg/kg borik asit uygulanan grup arasındaki fark önemsizdir. Diğer dört grubun serum ALP düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.



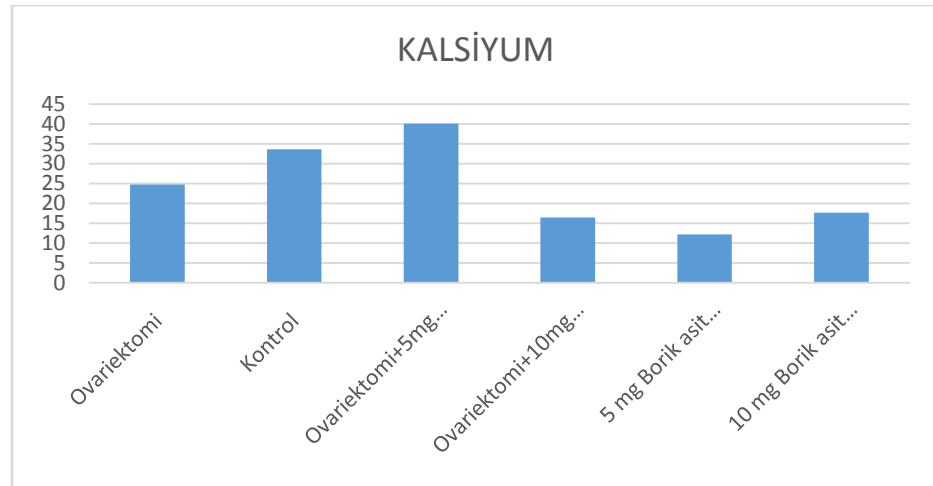
Şekil 3.6. ALPsonuçları grafiği

3.6. Kalsiyum Bulguları

Ovariectomi yapılan grubun serum kalsiyum düzeyi, ovariectomi+5mg/kg borik asit uygulanan grup ile kontrol grubundan düşük;5mg/kg borik asit uygulanan grubun serum kalsiyum düzeyinden yüksek ($p<0,05$) bulundu.

Ovariectomi +5mg/kg borik asit uygulanan grubun serum kalsiyum düzeyi sadece kontrol grup ile kıyaslandığında anlamlı farklılık gözlenmez iken, diğer gruplarla anlamlı bir farklılık görülmüştür($p<0,05$).

Ovariectomi +5mg/kg borik asit uygulanan grup dışında ($p>0,05$) diğer grupların serum kalsiyum düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 3.7. Kalsiyum sonuçları grafiği

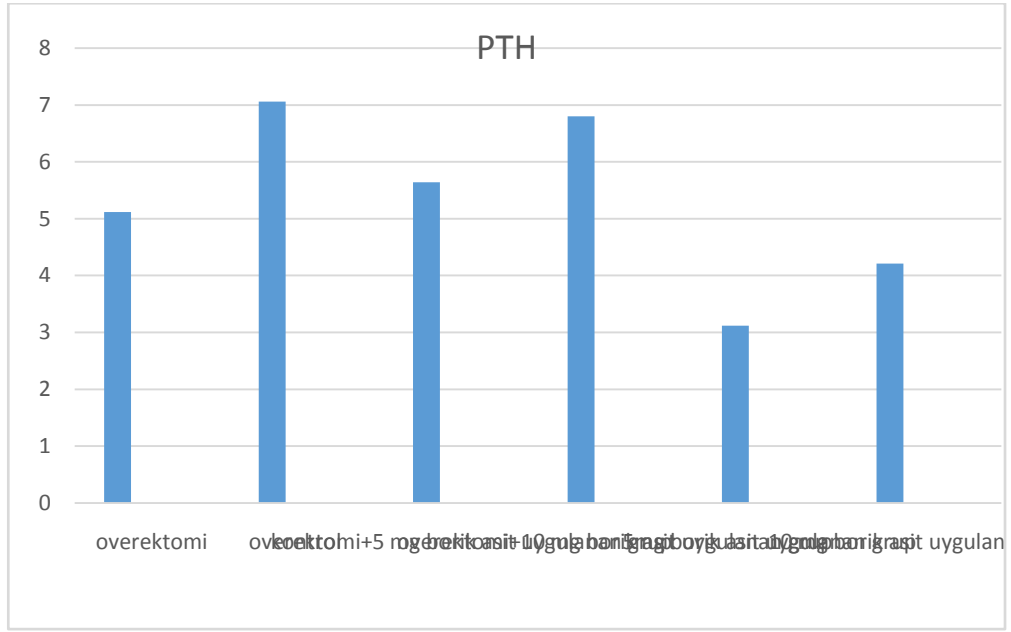
3.7. PTH Bulguları

Ovariectomi yapılan grubun serum PTH düzeyi diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı farklılık göstermemiştir.

Ovariectomi +5mg borik asit uygulanan grubun serum PTH düzeyi diğer gruplarla kıyaslandığında anlamlı farklılık göstermemiştir.

Kontrol grubunun serum PTH düzeyi 5mg/kg borik asit uygulanan grup ile ovariektomi+10mg/kg borik asit uygulanan grupla kıyaslandığında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$), diğer gruplar ile anlamlı farklılık göstermemiştir.

Ovariektomi+10mg borik asit uygulanan grubun serum PTH düzeyi sadece 5mg borik asit uygulanan grup ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 3.8. PTH sonuçları grafiği

4. TARTIŞMA

Osteoporoz özellikle yaşam kalitesini etkilemesi ve vertebral kırıkları olan hastalarda belirgin rahatsızlık göstermesi bakımından önemli bir rahatsızlıktır. Osteoporozun en önemli nedenlerinden birinin de menopoza olduğu bilinmektedir. Osteoporozla ilgili oluşan kemik erimesini önlemek için güncel olarak birçok ilaçlı tedavi yöntemi geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu çalışmada borik asidin bir tedavi yöntemi olarak önerilmesinin başlıca sebebi borik asidin bir Lewis asidi olması ve vitamin D üzerine etki edebileceğinin düşünülmesidir. OH iyonu eklendikçe vitamin D'nin aktif forma geçmesi kolaylaşmaktadır. Borik asit de bir Lewis asididir ve ortama hidroksil iyonu eklenmesini kolaylaştırıcı etki yapar; bu sebeple vitamin D'nin aktif forma gelmesine neden olabileceği ileri sürülmüştür. Borik asidin bu özelliğinden dolayı kemik metabolizması üzerinde etki gösterebileceği düşünülerek bu çalışma planlanmıştır.

Fenççi ve ark (2001) postmenopozal kadınlarda yapmış olduğu alfacalsidol tedavisinde kalsiyum, fosfor ve ALP düzeylerinde artış gözlemişlerdir. Aynı şekilde Akyol ve arkadaşlarının(2011) yapmış olduğu araştırmada teripetadit tedavi uygulamasının osteoporozdaki etkileri araştırılmış ve kalsiyum, fosfor, ALP, PTH, 1,25 dihidroksi vitamin D düzeylerinde anlamlı farklılık bulunmaz iken 25 hidroksi vitamin D düzeyinde hafif azalma gösterdiği bildirilmiştir. Başka bir araştırmada Robins (1999) ise osteoporozda serum kalsiyum, fosfor, parathormon, ALP düzeylerinin normal; kalsitriol düzeyinin düşük olduğu görülmüştür.

Deneysel osteoporoz modeli oluşturmak amacıyla ratlarda ovariektomi operasyonları sıklıkla yapılmaktadır. Ömeroğlu ve ark (2003) sıçanlarda ovariektomi sonrası kemik kaybı 2 haftadan sonra başladığını, yoğun etkisinin ise 100 gün içinde oluştuğunu yaptıkları çalışmada gözlemişlerdir. Yapılan araştırmada ovariektomi yapılan grup ile kontrol grubunun kemik biyokimyasal parametre bulguları ovariektomi grubunun serum PTH, Ca ve 1,25 dihidroksi vitamin D düzeylerinde kontrole göre anlamlı azalma gözlenirken ALP, fosfat, magnezyum, 25 hidroksi vitamin D düzeylerinde önemli bir değişiklik gözlenmemesi ancak ALP düzeyinin

ovarietomi yapılan grupta kontrollere göre hafif yükselme göstermesi kısmi olarak da olsa bize osteoporozun oluştuğunu göstermektedir.

Bahar (2009) da yapmış olduğu çalışmada tip I osteoporozda serum kalsiyum, serum fosfat düzeylerinin normale göre herhangi bir değişiklik göstermediğini, PTH fonksiyonunun, 25 hidroksi vitamin D nin 1,25 dihidroksivitamin D ye dönüşmesinin azaldığını, ALP düzeyinde ise hafif bir artış olduğunu bildirmişlerdir.

Kurt ve ark (2011) osteoporitik hastalarda yapmış oldukları çalışmada normal bireylere göre 25 hidroksi vitamin D seviyesinde azalma gözlenmiştir. 25 hidroksi vitamin D seviyelerinin referans değerlerin altında çıkmasının başlıca nedenlerinin; vitamin D nin diyetle yeterli alınmaması ve bağırsaklarda yeteri miktarda emilmemesi, güneş ışığından yeterince yararlanılamaması ya da karaciğer de 25 hidroksi vitamin D ün üretiminin engellenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

1,25 dihidroksi vitamin D seviyelerinin referans değerlerin altında çıkmasının başlıca nedeni böbrek yetmezliği ve böbrek rahatsızlığı olduğu, referans değerlerin üstünde çıkmasının nedeninin ise PTH seviyesinin yüksek olmasına bağlı olduğu bilinmektedir (İnce ve ark 2010).

Ovarektomi yapılan gruplar ile borik asit uygulanan grupların serum 1,25 Dihidroksi vitamin D bulguları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düşük oldukları görülmektedir. Ancak bu fark yalnızca Ovarektomi+10 mg/kg borik asit verilen grupta istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Bulgular genel olarak değerlendirildiğinde ovariektomi stresi ile birlikte 10mg/kg borik asit verilmesinin böbrek için toksik etki gösterebileceği ileri sürülebilir. 5mg bor uygulanmış grupların 1,25 Dihidroksi vitamin D düzeylerinin 10 mg/kg bor uygulanan gruplara göre daha yüksek olması, WHO'nun 98 deki bor için belirlediği referans sınırlar (5-10 mg/kg) dikkate alındığında 10mg/kg borik asitin toksik etki yapmış olabileceği; gavaj yöntemiyle yapılan uygulamanın da bu etkiye katkı sağladığı görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızda serum magnezyum düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Benzer şekilde Yiğit ve ark 2013 yılında yapmış

oldukları çalışmada farklı dozlarda borik asit uygulamasının tavşanlar üzerinde serum magnezyum düzeylerinde anlamlı farklılık göstermediğini bildirmiştir. Türkez ve Geyikoğlu (2010) ratlarda yapmış oldukları farklı dozlardaki borik asit uygulamasında serum magnezyum düzeylerinde anlamlı farklılık göstermediğini bildirmiştir.

Karabulut ve Eren (2006) Besi bildircinlerinde yeme ilave edilen borun kalsiyum, inorganik fosfat, magnezyum, düzeyleri ile ALP aktivitesi üzerinde nasıl bir değişim gerçekleşeceğini araştırmıştır. Serum Ca düzeyleri tüm deneme gruplarında, inorganik fosfat düzeyleri 120 ve 240 mg/kg ve Mg düzeyleri de 60,120 ve 240 mg/kg B verilen gruplarda düşerken, serum ALP aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Serum kalsiyum, inorganik fosfat ve Magnezyum düzeyleri besi bildircini yemlerine 10 mg/kg ve üzeri düzeylerde B ilavesiyle düşmüştür, ALP aktivitesi ise etkilenmemiştir. Bu bilgiler ışığında 10mg/kg ve daha düşük düzeyde bor ilavesi bulunan bildircin yemi tüketiminin daha yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Bor ile magnezyum, kalsiyum, fosfor, hemoglobin, plazma alkalin fosfataz, molibden ve kolekalsiferol arasında etkileşim olduğu saptanmıştır. Borun bu etkileri, hücre zarları üzerindeki olası rolleri ile yaptığı düşünülmektedir (Nielsen 1989, Nielsen ve ark 1991, Rossi ve ark 1993, Hunt ve Herbel 1993, Naghii ve Saman 1996).

Kan kalsiyum seviyesi vücutta dar bir skala içinde olduğu için çeşitli hormonlar tarafında sürekli kontrol edilir. PTH böbreğe etki ederek 1,25 dihidroksikolekalsiferol sentezini artırır. Sentezlenen bu bileşikte hem böbrek hem bağırsaktan kalsiyum emilimini artırır. PTH kemikte Ca mobilizasyonunu artırarak kan Ca seviyesini artırır. Artan PTH ile kalsitonun seviyesi düşer (Keha2011).

Yılmaz ve arkadaşlarının 2006 yılında osteoporozlu hastalarda yapmış olduğu çalışmada serum kalsiyum değerinin osteoporitik hastalarda referans değerlere göre yüksek olduğunu, tedavi edici ajan kullanıldığında ise kalsiyum değerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bunun nedeninin kemiklerde kalsiyum resorbe olmaması ya da böbreklerde emiliminin azalması sonucu kandaki kalsiyum kemik dokusuna

doğru geçiş gösterdiği ve böylece serum kalsiyumunun düştüğü, iyileşme konusunda ise tam tersi bir tablo söz konusu olduğu ileri sürülmüştür.

Bu bilgiler işiğindamevcut araştırmada, ovariektomi yapılan grup ile kontrol grubu arasında serum kalsiyum düzeyleri açısından anlamlı fark görülmüş ovariektomigrubunda düşüş bulunmuştur. Bu bulguyu kemik kaybının başladığının bir göstergesi olarak düşünebiliriz. Ayrıca ovariektomi+5mg/kg borik asit grubu dışında diğer gruplarda borik asit ilavesi serum Ca düzeylerini düşürmüştür. Aynı zamanda bu grubun serum Ca ile birlikte 1,25 Dihidroksi vitamin D, 25 hidroksi vitamin D ve PTH sonuçları da kontrol grubuna daha yakındır. Diğer gruplarda yukarıda iddia edildiği gibi 1,25 Dihidroksi vitamin D seviyelerindeki düşüklüğün böbreklerden kaynaklanabileceği görüşü Ca için de ileri sürülebilir.

Bor ile fosfor arasında dolaylı bir etkileşim bulunmaktadır. 20-27 yaşlarındaki bayanlarda yapılan bir çalışmada, bor takviyesinin serumdaki fosfor konsantrasyonunu düşürücü etki gösterdiği ortaya konmuştur. Egzersiz yapmanın ise bu değişikliği azalttığı ileri sürülmüştür. Egzersiz sonucu kemik kaybındaki artmadan dolayı bor takviyesine ihtiyaç duyulacağı ve bor takviyesi sırasında magnezyum konsantrasyonun düşük olduğu, bu düşük magnezyum idrardan fosforun ekstraksiyonunu baskıladığı iddia edilmiştir(Green ve Ferrando 1994).

Bayan atletlerde yapılan bir çalışma ise diyete 3 mg/gün bor eklenmesinin, serum fosforunu zaman içinde azalttığını, serum magnezyum konsantrasyonunu ve üriner (boşaltım) kalsiyum konsantrasyonunu arttırdığını ve bor alımı sonucu üriner bor konsantrasyonunda da artış olduğunu göstermiştir (Meacham ve ark 1994). Yapılan bir çalışmada, genç yaştaki atletik bayanlar ve sedanter (yerleşik, hareketsiz) bayanlara 3 mg borun 10 ay boyunca verilmesinin yanı sıra magnezyum, fosfor ve kalsiyumdan fakir bir diyetle beslenmeleri sonucunda, yalnız kan fosfor ve magnezyum konsantrasyonlarının etkilendiği, kan kalsiyum değerlerinin beklenen sınırlar içinde olduğu belirtilmiştir. Sonucun diğer çalışmalardan farklı olmasının nedeni olarak; kişilerin yaş ortalaması, östrojen düzeyleri, bazal bor tüketimleri, bor uygulanma süresi ve aktivite farkı sorumlu tutulmuştur. Bor uygulaması ile birlikte düşük serum fosfor konsantrasyonları saptanmıştır. Sedanter grupta kan magnezyum

seviyelerinin, atletik gruba göre daha yüksek olduğu ve idrarla bor sekresyonunun belirgin artış gösterdiği görülmüştür (Meacham ve ark 1995).

Hunt ve ark (1991)yapmış oldukları bir çalışmada, postmenapozal kadınlarda yapılan yeni bir çalışmanın sonuçları verilmiştir. İlk 23 gün beslenmede denge dönemi olmak üzere 167 günlük deney süresinde bor 3 mg/gün olarak uygulanmıştır. Borun ilk uygulamasından 24 saat sonra, idrar bor konsantrasyonunun arttığı saptanmıştır. Ancak serum bor konsantrasyonu beklenen yüksekliğe ulaşmamıştır. Düşük magnezyum diyeti uygulanan grupta bor desteği, kalsiyumun idrarda atımını azaltırken, magnezyum desteği alan grupta üriner kalsiyum konsantrasyonunu arttırmıştır; diyetle bor alımı magnezyum desteği almayan gönüllülerde serum magnezyum konsantrasyonunu azaltmıştır (Hunt ve ark 1991).

Yılmaz ve ark 2006 yılında yapmış olduğu çalışmada osteoporozlu hastalar ile normal hastalar arasındaki ALP, PTH, fosfor, kalsiyum değerleri incelenmiş serum ALP ve PTH düzeyleri arasında gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmezken referans değerler içerisinde kontrol grubuna göre osteoporozlu hastalarda ALP ve PTH de yükselme gözlemlendiği bildirilmiştir. Serum Ca ve serum P açısından da anlamlı bir farklılık saptanamamıştır.

Bizim çalışmamızda da serum P düzeylerinde sadece ovariektomi yapılan grup ile Ovariektomi+10mg borik asit uygulanan grup arasında ve Kontrol grubu ile Ovariektomi+10mg borik asit uygulanan grup arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir.

PTH Kalsiyum metabolizmasını ayarlayan bir hormondur. Plazma kalsiyum düzeyi düştüğü zaman PTH sentezlenmesi uyarılır. Kalsiyum düzeyi yükseldiğinde ise feed back mekanizması ile çalıştığı için inhibe olur. PTH'u diğer bir inhibe edici faktörde 1-25 dihidroksikolekalsiferol dür. PTH ın etkisi plazma kalsiyum düzeyinin artması, plazma fosfat düzeyinin düşmesi ve D vitamini aktivitesinin artmasıdır (Hunt ve Herbal 1992).

Ovariektomi yapılan grup ile kontrol grubu arasında PTH düzeyi bakımından anlamlı farklılık gözlenemese de kontrol grubunda ovariektomi yapılan gruba göre

artış gözlenmiştir. Yukarıda belirtildiği üzere sıçanlarda ovariektomi sonrası kemik kaybının 2 haftadan sonra başlaması, en yoğun kaybın ise 100 gün içinde gözlenmesi (Ömeroğlu ve ark 2003, Wronski ve ark 1989); çalışmada bu sürenin azlığından dolayı PTH düzeyinde değişikliğe neden olacak kemik metabolizmasının bozulmadığı kanısına varılabilir.

İstatistiği veriler bütün halinde göz önüne alındığında borik asidin 5mg/kg ve 10 mg/kg dozda uygulanmasının PTH düzeyini azaltıcı bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

25 hidroksi vitamin D nin düşük düzeylerinin kırık riskini artırdığı ve osteoporotik rahatsızlığın oluşumuna katkı sağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca düşük düzeyde olması 25 hidroksi Vitamin D nin böbrek ve bağırsaklarda emilimde bozukluk olduğu durumlarda da gözlenen bir durumdur (Kavas ve ark 1998). Bizim çalışmamızda ise ovariektomi yapılan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Naghii ve ark (2011) yılında ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada (ovariektomi işlemi yapılmamış) borik asit, düzenli fiziksel aktivite ve vitamin D kombine tedavi yöntemini uygulayıp gruplar (grup 1: kontrol, grup 2: +fiziksel aktivite, grup 3: +fiziksel aktivite+ kalsiyum+ bor) arasındaki ALP, vitamin D, parathormon farklılıklarını incelemiştir. Ve bu üç parametrede gruplar arasında farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda sadece 5 mg borik asit uygulanan grup ile sadece 10 mg borik asit uygulanan grup arasında anlamlı bir fark gözlenmiş, 5mg Borik asit uygulanmış grupta sadece 10 mg borik asit uygulanmış gruba göre 25 hidroksi vitamin D miktarında düşüş gözlenmiştir.

ALP düzeyi osteoporotik durumlarda serum ALP düzeyi referans değerleri arasında kalır veya artış gösterir. Tedavi edici ajan kullanımında ise ALP düzeyinde tedavi öncesine göre düşüş gözlenmesi beklenir (Şen ve ark 2002).

Ovariektomi yapılan grup ile kontrol grubu arasında serum ALP düzeyi bakımından anlamlı farklılık bulunmamasının temel nedeni kemik kaybının oluşması için ovariektomi işleminin takiben bırakılan sürenin kısa olmasına bağlayabiliriz.

Araştırma ALP sonuçları incelendiğinde 5mg/kg ve 10 mg/kg dozda borik asit uygulanan grupların ALP düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında önemli bir fark yoktur. Ovariectomi yapılan gruplarda ALP düzeylerinde değişim beklenirken yalnızca borik asit uygulanan grupların serum ALP düzeylerinde görülen fark literatür taramalarında konu ile ilgili net bulgulara rastlanmaması nedeniyle yorumlanamıştır. Borik asit ile ALP düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılacağı çalışmalar ileride konunun aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

5. SONUÇLAR

Bor günümüzde birçok farklı alanda kullanılan ve araştırmaya konu olmuş bir elementtir. Ülkemizdeki rezervi dikkate alındığında bor ve borik asit türevleri çok önemli bir yere sahiptir. Borik asidin vücuttaki metabolizmalar üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte güncel bir araştırma konusudur. Yapılacak çalışmada borik asidin kemik metabolizması ve bununla ilgili hormonlar üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, ovariectomize ratlarda borik asidin farklı dozlarda uygulanması kemik biyokimyasal parametreleri üzerinde pozitif bir etki gösterip göstermediği ile ilgili tam bir sonuca varılamamıştır. Gerek ovariectomi işleminden gavaj uygulaması arasında geçen sürenin kısa olması gerekse borik asidin kararlı bir formda olup vücutta metabolize olmasının düşük olması, toksik etkisi gibi özelliklerinden dolayı kemik metabolizması üzerinde anlamlı bir etki göstermediği düşünülmektedir. Ovariectomi işleminin takiben kemik kaybının daha uzun bir süre beklenmesi, daha farklı dozlarda borik asit uygulanması, borik asidin kombin tedavilerle kullanımının kemik metabolizması üzerinde nasıl bir etki göstereceği ile ilgili yapılacak çalışmalar ışığında borik asidin etkisinin daha iyi izlenebileceği düşünülmektedir.

ÖZET

OVARIEKTOMİZE RATLARDA BORİK ASİT UYGULAMASININ KEMİK METABOLİZMASI ÜZERİNE OLASI ETKİSİ

Çalışmada ovariektomi operasyonu yapılan ratlarda borik asit uygulamasının kemik biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkisi araştırıldı.

Bu amaç için, 60 adet 12-14 haftalık, ortalama 150-250gr ağırlığında gebe olmayan Wistar tipi dişi rat 6 gruba ayrıldı. 3 gruba ovariektomi yapıldı, ovariektomi yapılan gruplardan birine 5mg/kg, diğerine 10mg/kg borik asit gavaj yoluyla verildi. 4.gruba yalnızca 5mg/kg; 5.gruba 10mg/kg borik asit uygulandı. Yalancı ovariektomi yapılan grup kontrol grubu olarak belirlendi. Borik asit uygulaması operasyonları takiben 8 hafta sonra başladı ve 20 gün boyunca devam etti. Deneme sonunda alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinde kalsiyum, magnezyum, fosfor, ALP, 1,25 dihidroksi vitamin D, 25 hidroksi Vitamin D ve PTH değerleri incelendi. Araştırmada, Ovariektomi+5 mg Borik asit uygulanan grup dışında diğer grupların serum Ca düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p<0.05$). Ovariektomi ve 10mg borik asit uygulanan grubun 1,25 dihidroksi Vit D düzeyleri diğer gruplara göre düşük ($p<0,05$); 5 ve 10 mg borik asit uygulanan grupların serum ALP düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olarak saptandı ($p<0,05$).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ratlarda ovaryumların çıkarıldıktan sonra geçen 8 haftalık sürenin kemik metabolizması üzerine önemli bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir. Borik asidin farklı dozlarda uygulandığı çalışmada kemik biyokimyasal parametreleri üzerine borik asidin doğrudan etkisi ile ilgili bir sonuca rastlanmamıştır. Ancak Ca düzeylerindeki değişimler bor ile Ca arasında bir ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ovariektomi, Borik asit, 25 hidroksi Vitamin D, 1,25dihidroksi Vitamin D, ALP, Ca, P, Mg

SUMMARY

A POSSIBLE EFFECT OF BORIC ACID APPLICATION ONTO BONE METABOLISM IN OVARIECTOMIZED RATS

In the study, the effects of boric acid application were investigated on biochemical parameters of bone in ovariectomized rats.

To this end, 12-14 weeks of age, with the average weighing 150-250g, non-pregnant, sixty female Wistar rats were divided into six groups. Three groups were bilaterally ovariectomized, 5 mg boric acid was given to one of these groups via gavage and the other group was received 10mg. Boric acid was applied only 5mg/kg to the 4th group and 10mg/kg to the 5th group. Pseudo ovariectomized group performed as control. After 8 weeks following the operations, boric acid treatment was started and continued for 20 days. Calcium, magnesium, phosphorus, ALP, 1,25dihidroksi vitamin D, 25 hidroksi vitamin D, and PTH values were investigated from collected serum samples at end of the research.

In the study, except from Ovariectomy+5 mg Boric acid treated group, serum Ca levels of the groups acid were significantly lower compared to the control group ($p < 0.05$). 1,25 dihidroksi vitamin D levels of Ovariectomy and 10 mg boric acid treated group were lower compared to other groups ($p < 0.05$); serum ALP levels in 5 and 10 mg of boric acid treated group were found higher than the control group ($p < 0.05$).

The results obtained from this study showed that eight weeks after the removal of the ovaries in rats did not cause a significant change in bone metabolism. In the study where different doses of boric acid is applied, there is no evidence of any direct effect of the boric acid on the bone biochemical parameters. However, changes in Ca levels may suggest a relationship between the C and boron.

Keywords: Ovariectomie, Boric acid, Vitamin D, 25 hidroksi Vitamin D, 1,25 dihidroksi Vitamin D, ALP, Ca, P, Mg

KAYNAKLAR

Ardeniz Ö,Avcı BÇ, Sin A,Özgen G,Gunsar F,Mete N,Gülbahar O,Kokuludağ A.Vitamin D Deficiency in the Absence of Enteropathy in Three Cases with Common Variable Immunodeficiency. Novel insight from clinical Practice 2008.

Ata Ö, Cemal P. Postmenapozal osteoporozda hormon replasman tedavisi (Ertüngealp E.Menopoz ve Osteoporoz Tarihi. Ertüngealp E, Seyisoğlu H, Editör: Menapoz ve Osteoporoz İstanbul 2000 Bölüm1:1-10.

Aydil S. Osteoporozda Egzersiz Programının Solunum Fonksiyonlarına Ve Yaşam Kalitesine Etkisi 2005.

Bahar Ş. Cerrahi olarak menopoza giren kadınlarda serum kemik turnover belirteçlerinin akut değişiklikleri ve kemik mineral dansitesi ile karşılaştırılması Uzmanlık Tezi İstanbul 2009.

Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: Favus MJ, editör. Primer on the metabolic bone diseases and disorder of mineral metabolism.4th ed. Philadelphia: lippincott Williams& wilkinga 1999: 3-10.

Basoğlu A, Sevinc M, Birdane FM, Boydak M. Efficacy of sodium borate in the prevention of fatty liver in dairy cows, journal of Veterinary Internal Medicine, 2002; Nov-Dec 16(6):732-5.

Baykal Y, Sağlam K, Yılmaz I, Taşlıpınar A, Akıncı SB, İnal A. Serum sIL-2r,IL-6 ,IL-10 and TNF α in Familia Mediterranean Fever patient.Rheumatology International 22;99-101;2003.

Beattie J, Peace HS. The influence of a low-boron diet and boron plementation on bone, major mineral and sex steroid metabolism in suppostmenopausal women, British Journal of Nutrition 1993; 69: 871-884.

Bellinger JF, Campbell RA. Determination of serum calcium by glyoxal bis (2-hydroxyanil) chelation. Am Assoc Clinical Chemistry.1965.

Body JJ, Bergmann P, Boonen S, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S. Evidence-based guidelines for the pharmacological treatment of postmenopausal osteoporosis: a consensus document by the Belgian Bone Club. *Osteoporos International* 2010;21:1657-80.

Bora C, Bahadır ÖC, Sekban H, Koç H, Gürer N, Atalay S. Postmenopozal osteoporozda Risedronatın Kalsiyum ve D vitamini ile Beraber Kullanımın kemik döngüsünün biyokimyasal belirteçleri ve kemik mineral yoğunluğu üzerine etkisi. *Türk Osteoporoz Dergisi* 2004.

Bozdağ Ş, Erdevi Ö, Oğuz ŞS, Gökmen T, Uraş N, Dilmen U. Perinatal letal hipofosfatasya: Olgu sunumu. *Türk Pediatri Araştırmaları* 2010; 45: 373-6.

Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism, an overview. *Clin. Biochem.* 1997; 30: 573-93

Cosman F. Use of biochemical markers in the diagnosis and management of osteoporosis. Paper presented at a conference on Bone Mass Measurement in Osteoporosis and Other Bone Diseases, Los Angeles, National Osteoporosis Foundation. 1995; 9-11.

Cui Y, Winton MI, Zhang ZF, Rainey C, Marshall J, De Kernion JB, Eckhert CD. Dietary boron intake and prostate cancer risk, *Oncology Report*, 2004; Apr, 11(4):887-92

Çetiner S, Öztürk M, Yücetaş Ş. Determination of serum alkaline phosphatase, calcium and phosphate levels after the clinical use of solvent dehydrated allogenic bone implantation in cystic cavities. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2001; (25): 26-30.

Çinkü M. Ulusal Maden Varlığımız ve Bor Gerçeği, Ankara Ticaret Odası. 2001.

Davies JL, Andrews GS, Miller R, Owen HG. Comparison of the Stannous Chloride and Vanadate methods for Estimation of Serum Inorganic Phosphorus by use of the "SMA 12/60", *Clinical Chemistry* 1973; 19(4) 411.

Deacon AC, Hulme P. Estimation of whole body bone resorption rate: A comparison of urinary total hydroxyproline excretion with two radioisotopic tracer methods in osteoporosis. *Clin Chim Acta*, 1987; 66: 297-306

Dehaimi AW, Blumsohm A, Eastell R. Serum galactosyl Hydroxylysine as a biochemical markers of bone resorption. *Clinic Chemistry*.1999; 45: 676-681.

Delmas PD. *Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis*.1992.

Diniz G, Kayserilioğlu E, Ortaç R, Aktaş S, Hızırıcıoğlu M. Osteopetrozis: Kelepouris ve yeni gelişmeler Osteopetrosis: Report of a case and recent developments. *Ekopatoloji Dergisi* 2004; 10 (3-4): 137-140.

Dupre JN, KeenanMJ, Hegsted M, Brudevold AM. Effects of dietary boron in rats fed a Vitamin D deficient diet. *Environment Health perspect*.1994 november; 102;7:55-8.

Ecer S, Dikici B, Hasbolat K. Kronik karaciğer hastalarında kemik mineral metabolizması, *Dicle Tıp Dergisi*. 2005; 32: 57-62.

Fençi İV, Doğanay M, Tanrıöver S, Gökmen O. Postmenapozal Osteoporozda Alfa calcidol Tedavisinin Kemik Mineral Yoğunluğu ve kalsiyum Metabolizması Üzerine Etkisi. *Türkiye Klinikleri L Gynecol Obst*. 2001;11(4):243-6.

Ghanizadeh G,Babaei M,Naghii MR, Torkaman G, Hedayati M. *Toxicol Ind Health* Published Online 10 July 2012: DOI 10.1177/074823312452775.

Ghosal S, Srivastava AK. *Fundamentals of Bioanalytical Techniques and Instrumentation*. ISBN:978-81-203-3855-5,2009:185-200. 2013.

Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB. Histomorphometric study of alveolar bone healing in rats fed a boron-deficient diet. *Anatomical record(hoboken)* 2008: 291:441-447.

Green NR, Ferrando AA. Plasma boron and the effects of boron supplementation in males. *Enviromental Health Perspectives*,1994;102,73-77

Gregory S, Kelly ND. Boron: A review of its nutritional interactions and therapeutic uses, *Alternative Medicine Review*. 1997;2(1): 48-56.

Haspolat K, Söker M. Kemiğe Ait Biyokimyasal Değerler ve Onkoloji. *Dicle Tıp Dergisi Journal of Medical School*. 2002; 29-3.

Horwitt BN. Determination of İnorganic Serum Phosphate By Means of Stannous Chloride. *Journal of Biochemical Chemistry*, 1952;199(2): 537-541.

Hunt CD ve Herbel JL. Trace elements in man and animals. TEMA 8. Proceedings of the Eighth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, Gersdorf, Germany, Verlag Media Touristik, 1993, 714-718.

Hunt CD, Herbel JL. Boron affects energy metabolism in the streptozotocin-injected, vitamin D3-deprived rat. *Magnes Trace Element*. 10 ;5-6, 1992; 374-386.

Hunt CD, Herbel JL, Idso JP. Dietary boron modifies the effects of exercise training on bone and energy substrate metabolism in the rat. *FASEB J*. 1993- 7, 204.

Hunt CD, Idso JP. Dietary boron as a physiological regulator of the normal inflammatory response: a review and current research progress. *J Trace Elem Exp Med*. 1999; 12, 221-233.

Hunt CD, Shuler TR, Mullen LM. Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products. *J Am Diet Assoc* 1991- 91, 558– 568.

Hunt CD. Dietary boron modified the effect of magnesium and molybdenum on mineral sodium aluminosilicate alters mineralization in the Turkey, *Biological Trace Element Research*. 1989: 22, 201-220.

Hunt CD. Regulation of enzymatic activity: one possible role of dietary boron in higher animals and humans. *Biology Trace Element Research*, 1998 66, 205–225.

İnce S, Küçük Kurt I, Çiğerci İH, Fatih Fidan A, Eryavuz A. The effect of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, DNA damage in rat, *Journal of Trace Element in Medicine and Biology*. 2010;24(3):161-164.

James IT, Walne AJ, Perrett D. The measurement of pyridinium cross-links: A methodological overview. *Ann Clinical Biochemistry*. 1996;33:397-420.

Jerrold JH, Catherine JP, Catherine JP, Elizabeth AF, Melissa CM, Christina BM, Richard E.M, Bernard A. S. Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. 1992.

Junquria LC, Carnerio J, Kelly RO. *Basic Histology*. 6 th ed. USA: Stanford :Appleton and Lange Company. 1989:136-153.

Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik AM *Biyokimya: 2. Baskı* Ankara: Nobel Yayınevi, 2000;274.

Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos International* 2013;24:23-57.

Karabulut N, Eren M. Besi bıldırcını yemlerine bor ilavesinin serum kalsiyum, inorganik fosfor ve magnezyum düzeyleri ile alkali fosfataz aktivitesine etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2006; 15(1): 8-12.

Kavas GÖ, Kocatürk PA, Sabuncuoğlu BT, Tekelioğlu M. Sıçan testis, karaciğer ve böbrek dokuları üzerine akut borik asit uygulamasının fizyopatolojik ve histopatolojik etkileri, Proje no: 197SO18, 1998; 45.

Keha E. *Biyokimya Labaratuvar Teknikleri*. Nobel Yayın Evi. 2011;69-72.

Kelepouris N, Schur PH, Drezner MK, Romain PL. *Clinical manifestations and diagnosis of Paget disease of bone*. Basow, UpToDate, Waltham. 2010.

Kent GN. *Clinical Chemistry*. Gower Medical Puslishes, New York: *Markers of Bone Turnover*. 1997; 9: 31-35.

Kıral F, Fidancı UR. Kemik metabolizmasının izlenmesinde biyokimyasal belirteçler ve klinik önemi. *Türk veteriner hekimliği dergisi* 2002; 14(1);52-55.

Kimmel DB, Moran EL, Bogoch ER. Animal models of osteopenia or osteoporosis. In: An YH, Friedman RJ, editors. *Animal Models In Orthopaedic Research*. BocaRaton: CRC Press 1999. p; 279-305.

Kurt M, Cömertoğlu İ, Sarp Ü, Yalçın P, Dinçer G. Osteoporozlu hastalarda D vitamini düzeyleri. 2011; 17;68-70.

Kutlu M. Kemik doku ve fizyolojisi. Tüm yönleriyle osteoporoz. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 1997:5-29.

Kutsal GY, Özdemir O, Çalışkan A, İnanacı F, Karahan S, Doğan A, Hizmetli S, Kamanlı A, Kuran B, Öncel S, Sarıkaya S, Savaş S, Şenel K, Uğurlu H, Yazgan P. Fiziyatristlerin Antiosteoporotik ilaç tercihleri: Çok Merkezli Tanımlayıcı Araştırma. *Türk osteoporoz dergisi* 2013;18.DOI:10.4274/TOD.6363.

Kutsal GY. Yaşlanan Dünya, Yaşlanan Toplum, Yaşlanan İnsan. *Hacettepe Toplum Hekimliği Bülteni*, 2003; 24(3-4):1-6.

Laitinen O, Nikkila EA, Kivinkko KI. Hydroxyproline in the serum and urine. *Acta Medica Scandinavia* 1966;179:275-284.

Lian JB, Gundberg CM. Osteocalcin: Biochemical Considerations and Clinical Applications. *Clinical Orthopaedics and Related Research, Section III*. 1987; 267-291.

Martin JM, Rodan AG. Coupling of bone resorption and formation during bone remodeling. Marcus R, Feldman DD, Kelsey J (Eds): *Osteoporosis*. San Diego, Academic Press 2001. 1;189-212.

Mastromatteo E, Sullivan F. Summary: International symposium on the health effects of boron and its compounds, *Environmental Health Perspectives*, 1994;102 ;7, 49-53.

Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL. Effects of boron supplementation on blood urinary calcium, magnesium and phosphorus and urinary boron in athletic and sedentary women, *American Journal of Clinical Nutrition*, 1995 61, 341-345.

Meacham SL, TaperLJ, VolpeSL. Effects of boron supplementation on bone mineral density and dietary, blood, and urinary calcium, phosphorus, magnesium, and boron in female athletes, *Environmental Health Perspectives*, 1994 :102 ;7, 79-82.

Montgomery R, Conway TW, Spector AA. *Biyokimya-olgu sunumlu yaklaşım*. Palme Yayıncılık. Ankara 2000.

Moseman RF. Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environ Health Perspect*. 1994, 102 (7), 113-117.

Murray FJ. A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biology Trace Element Research*, 1998: 66,331-341.

Naghii MR, Mofid M, Asgari A, Hedayati M, Daneshpour MS. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 25 (2011) 54–58.

Naghii MR, Saman S. The effect of boron supplementation on the distribution of boron in selected tissues and on testosterone synthesis in rats. *Nutritional Biochemistry*, 1996 7, 507–512.

Newnham RE. Essentiality of boron for healthy bones and joints, *Environmental Health Perspectives*, 102 (supplement 7), 1994; 83-85.

Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM. and Hunt JR. Effect of dietary boron on mineral, estrogen and testosterone metabolism in postmenopausal women. *Faseb Journal* 1987 1: 394-397.

Nielsen FH, MullenLM, Nielsen EJ. Dietary boron affects blood cell counts and hemoglobin concentrations in humans. *Journal Trace Element Experiment Medicine*. 1991: 4; 211- 223.

Nielsen FH. Dietary boron affects variables associated with copper metabolism in humans. In: Anke M, Baumann W, Braunlich H, Brückner C, Groppe B ve Grün M. 6th International Trace element Symposium. 1989 ;1106-1111.

Nielsen GH. Percutaneous absorption of boric acid from boron-containing preparations in rats. *Acta Pharmacol Toxicol*,1970 20, 413-424.

Nilsson LP, Granström G. Changes of serum alkaline phosphatase following mandibular osteotomy in the rat. *Journal of Dental Research*. 1987; 66: 1195-1198.

Onat ST, Konut M. BNTC ile kanser tedavisi. II. Uluslar Arası Bor Sempozyumu, 23-25 Eylül 2004.

Ömeroğlu S, Erdoğan D, Take G, Ilgaz C, Görgün M, Lortlar N. Ovariektomi Yapılmış Sıçanlarda aralıklı yüksek doz östrojen tedavisinin kemik yapısı üzerine etkisi. *Acta orthopaedica Traumatologica Turcica*. 2003; 37(5):400-405.

Özdemir ÖMA, Kılıç İ, Semiz S, Candemir M. Osteogenesis imperfecta tedavisinde yenilikler ve pamidronat tedavisi: Olgu sunumu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Aralık*; 15 -4-2008.

Öztürk Ö, Güçtekin A, Giniş Z, Erdoğan S. Hipertiroidi ve subklinik hipertiroidide kemik ve mineral metabolizmasının idrar piridinyum çapraz bağlarıyla değerlendirilmesi. *Genel Tıp Dergisi* 2007;17(2)

Papaioannou A, Morin S, Cheung AM, Atkinson S, Brown JP, Feldman S. 2010 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. *Canadian Medical Association Journal* 2010;182:1864-73.

Pineda MH. *Mc Donald's Veterinary Endocrinology and Reproduction*, Iowa State Pres. 2003. s:102.

Reece OW. *Functional Anatomy and physiology of Domestic Animals*, 4th ed. Wiley-Blackwell 2009.

Reginato A, Wangs W, Olsen B. Development biology of bone. In: Marcus R, Feldman DD, Kelsey J (Eds): *Osteoporosis*. San Diego 2001. 189-212

Robins SP. Biochemical markers of bone metabolism. *Clin Biochem*. 1999; 1.116-21.

Rosen CJ, Rackoff PJ. Emerging anabolic treatments for osteoporosis. *Rheum Dis Clin North Am*; 27-1: 215-233.

Rossi AF, Miles RD, Damron BL, Flunker LK. Effects of dietary boron supplementation on broilers. Poultry Science. 1993 72 (11), 2124-2130.

Sağlam M, Aşti R, Özer A. Genel Histoloji 2001.

Schlemmer A, Hassager C, Jensen SB, Christiansen C. Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. J clin endocrinol Metabol 1992; 74(3):476-480.

Seibel MJ. Molecular Markers Of Bone Turnover: Biochemical, Technical And Analytical Aspects. Osteoporosis International Supplement. 2000:18-29.

Sınırkaya M. Boraks Atıklarından Borun Geri Kazanılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum. 1999.

Sindel D. Günümüzde ve Gelecekte Osteoporoz Tedavisi. Türk Fiz Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi 2013;59: 330-7.

Şen TA, Derman O, Kınık E. Erkek adolesanlarda cinsel gelişme evrelerine göre alkalin fosfataz düzeyleri. Türk pediatri arşivi.2002;33-38.

Talbot JR, Guardo P, Seccia S. Calcium bioavailability and PTH acute changes after oral intake of dairy nondairy products in healthy volunteers. Osteoporos Int 1999;10: 137-147.

Turkez H, Geyikoğlu F, Tatar A, Keles MS, Kaplan I. The effects of some boron compound against heavy metal toxicity in human blood, Experimenta Toxicologic Pathology.2010.

Uzunoğlu N. Alkalin Fosfataz enziminin fizikokimyasal özellikleri, T. Klinikleri Tıp Bilimleri. 1998;18:69-75.

Virginia CG, Richardson, MA, Vet MB, MRCVS. Diseases of Small Domestic Rodents. ISBN: 978-1-4051-0921-5,2003.

Wegman DH, Eisen EA, Hu X, Woskie SR, Smith RG, Garabrant DH. Acute and chronic respiratory effects of sodium borate particulate exposures. Environ Health Perspect 1994 102, 119-128.

Weir RJ, Fisher RS. Toxicologic studies on borax and boric acid. Toxicol Appl Pharmacol 1972; 23; 351-364.

World Health Organisation. International Programme On Chemical Safety (I.P.C.S) Environmental Health Criteria, Boron, 204. 1998

Wronski TJ, Dann LM, Scott KS, Cintron M. Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. Calcif Tissue Int 1989;45:360-6.

Yaman K. Fizyoloji, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No:143, Bursa 1999.

Yavuz M. Diyaliz Hastalarında Vitamin D Tedavisi 2004.

Yenson M. İnsan Biyokimyası. Besinci Baskı, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul. 1984; 150-675.

Yıldırım S. Antik insan ve Kuzey Doğu Anadolu step filinin (Elephants trogontherii-mamut) kemiklerinde alkalin fosfataz enziminin aranması ve tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye. 2001.

Yılmaz A. Her derde deva hazinemiz bor. Tübitak-Bilim ve Teknik Dergisi, Ankara, Mayıs sayısı. 2002

Yılmaz DK, Armağan O, Ekim A, Taşçıoğlu F, Öner C. Postmenopozal Risendronat ve Raloksifen Tedavilerinin Etkilerinin Karşılaştırılması. Osteoporz dünyasından 2006;12:50-4.

Yiğit P, Eren M, Sarıca SZ, Şentürk M. Tavşanlarda Borik Asidin Kan Kimyasına Etkisi. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2013;10(2),77-85.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Elazığ'da doğdum. Fırat Üniveritesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünden 2010 yılında mezun oldum. Adnan Menderes Üniversitesinde Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalına 2011 yılında araştırma görevlisi olarak atandım ve 2012 yılında Yüksek Lisans eğitimime başladım.2014 yılında Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Ege Bölge Müdürlüğüne Kimyager olarak atandım ve hala bu kurumda görevime devam etmekteyim.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi,yardım ve hoşgörüsünü eksik etmeyen danışmanım ADÜ VeterinerBiyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ayşegül BİLDİK'e,çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof.Dr.Funda KIRAL, Prof. Dr.Pınar Alkım ULUTAŞ'a, Yrd. Doç.Dr Serap ÜNÜBOL AYPAK'a,Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Hakkı Bülent BECERİKLİSOY'a,Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Eyyüp Hakan UÇAR'a ve Araş.Gör. Cevdet PEKER'e, Fizyoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Ece KOÇ 'a sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.